

**Computerassistierte Vaskularisationsanalyse von
Mammatumoren mit dem Echosignalverstärker
SHU 508 A (Levovist®)
sowie 3D-Ultraschall**

**Dissertation
zur Erlangung des akademischen Grades
doctor medicinae (Dr. med.)**

**vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Schiller-Universität Jena**

**von Claudia Bitzer
geboren am 25. Juni 1975 in Albstadt-Ebingen**

Gutachter

- 1. Prof. Dr. Kaiser, Jena**
- 2. Prof. Dr. Nöschel, Jena**
- 3. Prof. Dr. Marincek, Zürich**

Tag der öffentlichen Verteidigung: 03.02.2003



FÜR MEINE ELTERN

I INHALTSVERZEICHNIS

I Inhaltsverzeichnis.....	IV
II Tabellenverzeichnis	IIIX
III Abbildungsverzeichnis.....	XI
IV Abkürzungen	XIII
1 Einleitung und Fragestellung.....	1
2 Grundlagen und Literaturübersicht	3
2.1 TUMOREN DER MAMMA.....	3
2.1.1 BENIGNE MAMMATUMOREN	3
2.1.2 MALIGNEN MAMMATUMOREN	3
2.1.2.1 Epidemiologie.....	3
2.1.2.2 Nichtinvasive Karzinome	3
2.1.2.3 Invasive Mammakarzinome.....	4
2.1.2.4 Tumorneoangiogenese	5
2.2 VERFAHREN ZUR DIAGNOSE VON MAMMATUMOREN	6
2.2.1 PALPATION UND INSPEKTION	6
2.2.2 MAMMOGRAPHIE	6
2.2.3 MAGNETRESONANZMAMMOGRAPHIE.....	7
2.2.4 MAMMASONOGRAPHIE.....	8
2.2.4.1 B-Bild-Sonographie	8
2.2.4.2 Dopplersonographische Verfahren	9

2.2.4.3 Echosignalverstärker.....	10
2.2.4.4 Auswertung nach Gabe von Echosignalverstärkern	11
2.2.4.5 3D-Ultraschall.....	12
3 Material und Methode.....	13
3.1 PATIENTINNENKOLLEKTIV	13
3.2 HISTOPATHOLOGISCHE UNTERSUCHUNG	13
3.3 UNTERSUCHER.....	13
3.4 ECHOSIGNALVERSTÄRKER	13
3.5 ULTRASCHALLGERÄT.....	14
3.6 HARD- UND SOFTWARE.....	14
3.7 ABLAUF DER UNTERSUCHUNG UND WAHL DER GERÄTEPARAMETER	16
3.8 BEARBEITUNG DER DATEN	18
3.8.1 2D-DATEN, ANFLUTUNGSPARAMETER.....	18
3.8.1.1 MEAN COLOR VALUE MCV (2D)	19
3.8.1.2 COLOR PIXEL DENSITY CPD (2D).....	21
3.8.1 3D-DATEN	22
3.8.2.1 VOLUMENBESTIMMUNG CVD (3D).....	22
3.8.2.2 GEFÄßMORPHOLOGIE (3D)	24
3.9 STATISTISCHE AUSWERTUNG	26
4 Ergebnisse.....	27
4.1 HISTOPATHOLOGISCHE DIAGNOSEN.....	27
4.2 PATIENTINNENKOLLEKTIV	27

4.3 GEWERTETE TUMOREN	28
4.4 ERGEBNISSE DER PARAMETER DER ANFLUTUNG (2D)	28
4.4.1 ERGEBNISSE DER AUSWERTUNG DES MEAN COLOR VALUE MCV (2D)	29
4.4.1.1 Vergleich benigne versus maligne, Tumorzentrum, 2D	30
4.4.1.2 Vergleich benigne versus maligne, Tumorumgebung, 2D	33
4.4.1.3 Vergleich Tumorzentrum versus Tumorumgebung, 2D	34
4.4.2 ERGEBNISSE DER AUSWERTUNG DER COLOR PIXEL DENSITY CPD, 2D	36
4.4.2.1 Vergleich benigne versus maligne, Tumorzentrum, 2D	37
4.4.2.2 Vergleich benigne versus maligne, Tumorumgebung, 2D	39
4.4.2.3 Vergleich Tumorzentrum versus Tumorumgebung	41
4.4.3 VERGLEICH DER QUANTITATIVEN UND QUALITATIVEN PARAMETER DER ANFLUTUNGSKURVEN (CPD UND MCV, 2D)	42
4.5 VOLUMENBESTIMMUNG (3D)	43
4.6 VERGLEICH DER FARBDICHTE DER 2D-/3D-MESSUNGEN	46
4.7 BEURTEILUNG DER 3D-GEFÄßMORPHOLOGIE	47
5 Diskussion	50
5.1 DISKUSSION DER METHODIK	51
5.1.1 PATIENTINNENKOLLEKTIV	51
5.1.2 ALTERSVERTEILUNG	51
5.1.3 HISTOPATHOLOGISCHE UNTERSUCHUNG UND ERGEBNISSE	51
5.1.4 UNTERSUCHER	52
5.1.5 ECHOSIGNALVERSTÄRKER UND DOSIERUNG	53

5.1.6 HARD- UND SOFTWARE	55
5.1.7 WAHL DER GERÄTEPARAMETER	55
5.1.8 ABLAUF DER UNTERSUCHUNG	58
5.1.9 BEARBEITUNG UND AUSWERTUNG DER DATEN.....	59
5.1.9.1 Zweidimensionale Daten der Anflutung.....	60
5.1.9.2 Dreidimensionale Daten	63
5.1.10 STATISTISCHE AUSWERTUNG	64
5.2 DISKUSSION DER ERGEBNISSE.....	65
5.2.1 GEWERTETE TUMOREN	65
5.2.2 ZWEIDIMENSIONALE DATEN DER ANFLUTUNG.....	66
5.2.2.1 Mean Color Value.....	67
5.2.2.2 Color Pixel Density.....	70
5.2.2.3 Vergleich Tumorzentrum / Umgebung.....	71
5.2.3 DREIDIMENSIONALE DATEN.....	72
5.2.3.1 Volumenbestimmung.....	72
5.2.3.2 Vergleich CPD/CVD	73
5.2.3.3 Gefäßmorphologie	74
6 Zusammenfassung	78
7 Literaturverzeichnis	79
8 Anlagen	87
PATIENTENINFORMATION	87
DANKSAGUNG	88

LEBENSLAUF	89
EHRENWÖRTLICHE ERKLÄRUNG.....	90

II TABELLENVERZEICHNIS

TABELLE 1: UNTERSUCHUNGSPROTOKOLL	17
TABELLE 2: BEOBACHTUNGSSCORE DER GEFÄßMORPHE.	25
TABELLE 3: BEWERTUNG DES BEOBACHTUNGSSCORES DER GEFÄßMORPHE	26
TABELLE 4: ALTERSVERTEILUNG DER 49 PATIENTINNEN	27
TABELLE 5: AUSWERTUNG DER PARAMETER DES MCV BEI 26 BENIGNEN UND 22 MALIGNEN TUMOREN GEMESSEN IM TUMORZENTRUM.....	30
TABELLE 6: DESKRIPTIVE STATISTIK DER IM ZENTRUM GEMESSENEN PARAMETER DES MCV DER BENIGNEN TUMOREN (N=26).....	31
TABELLE 7: DESKRIPTIVE STATISTIK DER IM ZENTRUM GEMESSENEN PARAMETER DES MCV DER MALIGNEN TUMOREN (N=22).....	32
TABELLE 8: AUSWERTUNG DER PARAMETER DES MCV GEMESSEN IN DER TUMORUMGEBUNG BEI 26 BENIGNEN UND 22 MALIGNEN TUMOREN.....	33
TABELLE 9: DESKRIPTIVE STATISTIK DER IN DER TUMORUMGEBUNG GEMESSENEN ANFLUTUNGSPARAMETER DER BENIGNEN TUMOREN (N=26).....	33
TABELLE 10: DESKRIPTIVE STATISTIK DER IN DER TUMORUMGEBUNG GEMESSENEN ANFLUTUNGSPARAMETER DER MALIGNEN TUMOREN (N=22)	34
TABELLE 11: VERGLEICH DER ANFLUTUNGSPARAMETER TUMOR VERSUS UMGEBUNG BEI BENIGNEN TUMOREN (N=26).....	35
TABELLE 12: VERGLEICH DER ANFLUTUNGSPARAMETER TUMOR VERSUS TUMORUMGEBUNG BEI MALIGNEN TUMOREN (N=22)	35
TABELLE 13: AUSWERTUNG DER CPD IM TUMORZENTRUM BEI 26 BENIGNEN UND 22 MALIGNEN TUMOREN	37
TABELLE 14: DESKRIPTIVE STATISTIK DER IM ZENTRUM GEMESSENEN PARAMETER DER CPD DER BENIGNEN TUMOREN (N=26)	37

TABELLE 15: DESKRIPTIVE STATISTIK DER IM TUMOR GEMESSENEN PARAMETER DER CPD DER MALIGNEN TUMOREN (N=22)	38
TABELLE 16: AUSWERTUNG DER CPD IN DER TUMORUMGEBUNG BEI 26 BENIGNEN UND 22 MALIGNEN TUMOREN	39
TABELLE 17: DESKRIPTIVE STATISTIK DER IN DER UMGEBUNG DES TUMORS GEMESSENEN PARAMETER DER CPD DER BENIGNEN TUMOREN (N=26)	40
TABELLE 18: DESKRIPTIVE STATISTIK DER IN DER UMGEBUNG DES TUMORS GEMESSENEN PARAMETER DER CPD DER MALIGNEN TUMOREN (N=22).....	40
TABELLE 19: INTRATUMORALER VERGLEICH TUMOR VERSUS TUMORUMGEBUNG DER BENIGNEN TUMOREN (N=26).....	41
TABELLE 20: INTRATUMORALER VERGLEICH TUMOR VERSUS TUMORUMGEBUNG DER MALIGNEN TUMOREN (N=22)	41
TABELLE 21: FARBVOLUMENANTEILE IM VERGLEICH BEI 25 BENIGNEN UND 20 MALIGNEN TUMOREN.....	44
TABELLE 22: VERGLEICH DER PUNKTZAHLN DES BEOBACHTUNGSSCORES DER GEFÄßMORPHOLOGIE BEI 25 BENIGNEN UND 20 MALIGNEN TUMOREN.....	47
TABELLE 23: BEWERTUNG DES BEOBACHTUNGSSCORES BEI 25 BENIGNEN UND 20 MALIGNEN TUMOREN	49

III ABBILDUNGSVERZEICHNIS

ABBILDUNG 1: DATENAKQUISITIONSET DER FIRMA 3D ECHOTECH®	16
ABBILDUNG 2: DARSTELLUNG EINES ZWEIDIMENSIONALEN DATENSATZES DER ANFLUTUNG VON LEVOVIST®	18
ABBILDUNG 3: DEFINITION DER ANSTIEGSGERADEN DER KURVE DES ZEITLICHEN VERLAUFS DES MCV	19
ABBILDUNG 4: DEFINITION DER ANFLUTUNGSPARAMETER DER KURVE DES ZEITLICHEN VERLAUFS DES MCV	20
ABBILDUNG 5: DEFINITION DER ANFLUTUNGSPARAMETER DER KURVE DES ZEITLICHEN VERLAUFS DER CPD	21
ABBILDUNG 6: PRINZIP DER VOLUMENSEGMENTATION ZUR NÄHERUNG DES TUMORVOLUMENS.	22
ABBILDUNG 7: VERSCHIEDENE STADIEN DER ANFLUTUNG VON LEVOVIST® BEI EINEM INVASIV DUKTALEN KARZINOM	29
ABBILDUNG 8: VERLAUF DES MEAN COLOR VALUE (MCV) IM TUMOR SOWIE DER PERIPHERIE DES INVASIV DUKTALEN KARZINOMS	30
ABBILDUNG 9: VERLAUF DER COLOR PIXEL DENSITY (CPD) IM TUMOR SOWIE DER PERIPHERIE DES INVASIVEN DUKTALEN KARZINOMS	36
ABBILDUNG 10: GEMITTELTER „IDEALER“ QUANTITATIVER KURVENVERLAUF DER ANFLUTUNG VON LEVOVIST® BEI 26 BENIGNEN UND 22 MALIGNEN TUMOREN.	39
ABBILDUNG 11: KORRELATION DER MAXIMALWERTE DER QUANTITATIVEN (CPD) UND QUALITATIVEN (MCV) ANFLUTUNGSKURVEN	42
ABBILDUNG 12: SEGMENTIERTES TUMORVOLUMEN EINES FIBROADENOMS, DARSTELLUNG MIT GEFÄßEN	44

ABBILDUNG 13: KORRELATION DER ZWEI- UND DREIDIMENSIONAL ERMITTELTEN GEFÄßDICHTEN.....	46
ABBILDUNG 14: VERTEILUNG DES BEOBACHTUNGSSCORES DER GEFÄßMORPHOLOGIE, 25 BENIGNE TUMOREN	48
ABBILDUNG 15: VERTEILUNG DES BEOBACHTUNGSSCORES DER GEFÄßMORPHOLOGIE, 20 MALIGNEN TUMOREN	48

IV ABKÜRZUNGEN

2D	zweidimensional
3D	dreidimensional
ATL	Advanced Technology Laboratories
Bps	Bilder pro Sekunde
CDA	Colour Doppler Area
CPD	Color Pixel Density
CPD _{prae}	Color Pixel Density vor Beginn des Anstiegs
CPD _{post}	Color Pixel Density am Höhepunkt der Anflutung
CT	Computertomographie
CVD	Color Voxel Density
Cw	Continuous wave
dB	Dezibel
DCIS	Duktales Carcinoma in situ
f _D	Grundfrequenz
FKDS	Farbkodierte Dopplersonographie
HE	Hämalaun-Eosin
Hz	Hertz
i.v.	intravenös
IDC	Invasives duktales Karzinom
KM	Kontrastmittel

LCIS	Lobuläres Carcinoma in situ
m	Steigung der Anstiegsgeraden
MCV	Mean Color Value / Mean Colour Velocity
MHz	Megahertz
MRM	Magnetresonanzmammographie
PRF	Pulsrepetitionsfrequenz
RAM	Rapid Access Memory
ROI	Region of interest
RGB	Rot Grün Blau Farbsystem
SAE	Stimulated Acoustic Emission
SD	Standard Deviation (Standardabweichung)
SVHS	Super Video Home System
T	Anflutungszeit
t(m)	Zeitraum des Anstieges der Anstiegsgeraden
US	Ultraschall

1 EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG

Das Mammakarzinom ist mit 25% aller malignen Tumoren das häufigste Malignom der Frau in Deutschland. Annähernd jeder fünfte Krebstod bei Frauen ist diesem Karzinom zuzuschreiben (Bundesgesundheitsministerium, 1999).

Beim Mammakarzinom tritt eine hämatogene und lymphogene Metastasierung bereits im frühen Tumorstadium auf. Fernmetastasierung liegt bei einer Tumorgöße von 5mm in 10%, bei einer Größe von 2cm bereits in 50% der Fälle vor (Fournier et al., 1976). Aufgrund des engen Zusammenhanges von Metastasierungsgrad und Verschlechterung der Prognose nimmt die Frühdiagnostik einen hohen Stellenwert in der Therapie des Mammakarzinoms ein (Tabar et al., 1999).

Die Mammographie weist derzeit unter den bildgebenden Verfahren die höchste Sensitivität in der Erkennung von Mammakarzinomen auf (Bassett, 2000). Im Vergleich zu klinisch manifesten Tumoren sind rein mammographisch diagnostizierte Mammatumoren in der Regel kleiner und haben daher eine bessere Prognose. Bei adäquater Therapie führt dies zu einer Senkung der Mortalitätsrate (Day und Warren, 2000). Zur weiteren Differenzierung nicht eindeutig beurteilbarer solider Brustläsionen wird die Sonographie als additives Verfahren, bei Frauen unter 30 Jahren primär eingesetzt (Bassett, 2000). Bei entsprechender Indikation steht außerdem die Magnetresonanztomographie zur Verfügung (Kaiser und Zeitler, 1985).

In der Sonographie von Mammatumoren werden einerseits im B-Bild morphologische Kriterien wie z.B. Echogenität, Randsaum und Schallschatten beurteilt. Darüber hinaus wird die Vaskularisation der Tumoren anhand von Doppler-Ultraschallmethoden wie der farbkodierten Dopplersonographie (Cosgrove et al., 1993) und der Power Angiographie (Birdwell et al., 1997) untersucht. Da in malignen Tumoren im Rahmen der Neoangiogenese Mikrogefäße gebildet werden, spricht der Nachweis von Vaskularisation im Tumor ergänzend zu den morphologischen Kriterien eher für Malignität (Delorme und Zuna, 1995). Allerdings ist der Blutfluß innerhalb der Mikrogefäße aufgrund des kleinen Gefäßlumens gering und trotz verbesserter Empfindlichkeit der Ultraschalltechnik meist schwer detektierbar (Delorme et al., 1999). Mit Hilfe sogenannter Ultraschallsignalverstärker werden diese schwachen

Gefäßsignale verstärkt (Chaudhari et al., 2000). Nach intravenöser Applikation der Echosignalverstärker kann sowohl die quantitative Zunahme von Farbsignalen im Tumor als auch die Dynamik der Signalveränderung entweder rein deskriptiv oder anhand spezieller computerassistierter Verfahren beurteilt werden (Huber et al., 1998).

Ausgehend von der morphologischen Beurteilung des B-Bildes stellt der dreidimensionale Ultraschall einen zukunftsweisenden Ansatz in der Ultraschalldiagnostik dar (Downey et al., 2000). Diese Technik erlaubt einerseits die dreidimensionale Darstellung der untersuchten Strukturen als auch volumetrische Messungen. In Kombination mit den herkömmlichen Dopplertechniken können dreidimensionale Vaskularisationsanalysen durchgeführt werden (Carson et al., 1997).

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, zu untersuchen, inwieweit nach Gabe von Levovist® die computerassistierte Vaskularisationsanalyse von Mammatumoren im zwei- sowie im dreidimensionalen Ultraschall eine zusätzliche Möglichkeit zur Unterscheidung zwischen benignen und malignen Tumoren darstellt. In der zweidimensionalen farbkodierten Dopplersonographie wurden die Anflutungskurven des Levovist® qualitativ untersucht. Im dreidimensionalen Ultraschall wurde nach Gabe des Echosignalverstärkers das Farbvolumen des Tumors beurteilt sowie der Verlauf der Tumorgefäße deskriptiv beurteilt. Folgende Fragestellung liegt der Untersuchung zugrunde:

1. Ist bei der gegenwärtigen Ultraschallmethodik die Beurteilung der Anflutungseigenschaften des Echosignalverstärkers SHU 508 A (Levovist®) in Gefäßen sonographischer Herdbefunde eine differentialdiagnostische Entscheidungshilfe?
2. Ergibt das volumetrische Verhältnis des Gefäßvolumens eines Tumors bezogen auf sein Gesamtvolumen einen Hinweis auf seine Dignität?
3. Ist der Flächenanteil der Farbpixel im zweidimensionalen Bild repräsentativ für die Gesamtvaskularisation des Tumors?
4. Können mit Hilfe der dreidimensionalen Ultraschalltechnik nach Echosignalverstärker-Gabe mittels farbkodierter Dopplersonographie artspezifische dreidimensionale Vaskularisationsmuster dargestellt werden?

2 GRUNDLAGEN UND LITERATURÜBERSICHT

2.1 TUMOREN DER MAMMA

2.1.1 BENIGNE MAMMATUMOREN

Zu den gutartigen neoplastischen Läsionen zählen intraduktale Papillome sowie Fibroadenome. Letztgenannte stellen Mischtumoren aus den verschiedenen Lobulusanteilen dar und treten in 10% der Fälle multipel auf. 70-75% aller gutartigen Tumoren sind Fibroadenome. Pathogenetisch wird ursächlich unter anderem eine hormonelle Dysregulation vermutet. Diese Annahme basiert auf dem Fehlen von Östrogenrezeptoren im entnommenen Gewebe. Die Entartungstendenz von Fibroadenomen ist mit 0,1-0,3% sehr gering (Dupont et al., 1987).

2.1.2 MALIGNEN MAMMATUMOREN

2.1.2.1 EPIDEMIOLOGIE

Die Inzidenz von Brustkrebs ist weltweit in den entwickelten Industrieländern am höchsten (Maass, 1994). In der BRD wird die Zahl der Neuerkrankungen pro Jahr auf annähernd 46 000 geschätzt. Der Trend ist wie in den letzten Jahren weiter ansteigend. Das mittlere Erkrankungsalter liegt bei 63,5 Jahren. Auch junge Patientinnen sind zunehmend betroffen. Das Risiko einer Frau, im Laufe ihres Lebens an Brustkrebs zu erkranken, liegt inzwischen bei 9-12,5% (Bundesgesundheitsministerium, 1999).

2.1.2.2 NICHTINVASIVE KARZINOME

Entsprechend der WHO Klassifikation werden Mammakarzinome in nichtinvasive und invasive Karzinome unterteilt.

Zu den nichtinvasiven Karzinomen, welche auch als Präkanzerosen bezeichnet werden, zählen das intraduktale Karzinom (Duktales Carcinoma in situ, DCIS) und das lobuläre Carcinoma in situ (LCIS). Das DCIS wird hauptsächlich bei prämenopausalen Frauen diagnostiziert (Frischbier, 1994). Es breitet sich im Hohlraumssystem der Milchgänge aus und tritt oft multizentrisch (mehrere Herde in verschiedenen Quadranten) auf (Holland et al., 1985). Silverstein et al. legten die Einteilung nach der Van Nuys-Klassifikation sowie einen Prognostischen Index fest (Silverstein et al., 1996). Bei

entsprechender Therapieform, die abhängig vom jeweiligen prognostischen Index gewählt wird, kann eine Heilungsrate von bis zu 95% erzielt werden (Evans et al., 1997). Unbehandelt liegt das Risiko der Entstehung eines invasiven duktales Karzinoms innerhalb von 10 Jahren bei 30-50% (Frykberg und Bland, 1994).

Ebenfalls vor allem prämenopausal tritt das LCIS auf. Häufig als Zufallsbefund im Rahmen einer Biopsie erkannt, geht es von den lobulären Drüsenendstücken aus und besteht histologisch aus kleinzelligen Epithelproliferationen. Das Risiko der Entstehung eines invasiven Karzinoms innerhalb von 20 Jahren ist für die ipsilaterale Brust um etwa 15-23%, für die kontralaterale Brust um 10-20% erhöht und meist unabhängig von der primären Lokalisation des LCIS (Rosen et al., 1978; Page et al., 1991).

2.1.2.3 INVASIVE MAMMAKARZINOME

Mit einem Anteil von 65-80% ist das invasive duktales Mammakarzinom das häufigste Malignom der Brust. Je nach Tumor-Stroma-Verhältnis wird es als Carcinoma solidum simplex oder als szhirröses Karzinom bezeichnet. Weitere -jedoch seltener auftretende- Karzinomtypen sind nach der Klassifikation der WHO das invasive lobuläre, muzinöse, medulläre, papilläre, tubuläre, adenoid-zystische, sekretorische und apokrine Karzinom, sowie das Pagetkarzinom der Mamille, eine Sonderform des duktales Karzinoms (Azzopardi et al., 1982).

Entscheidende Prognosefaktoren mit gesicherter klinischer Relevanz sind die TNM-Klassifikation (Tumorgroße, axillärer Lymphknotenbefall und Fernmetastasierung), Morphologie (mit Grading, histologischem Typ und Lymphangiosis Carcinomatosa) sowie Hormonrezeptorstatus und Resektion des Tumors im Gesunden (Funke und Schraut, 1998). Die Bedeutung potentieller Prognosefaktoren wie disseminierte epitheliale Tumorzellen im Knochenmark, tumorassoziierte Proteolysefaktoren sowie zellkinetische Parameter für den Verlauf der Erkrankung wird derzeit ebenso wie das Auftreten somatischer Mutationen (z.B. c-erbB2) in klinischen Studien überprüft (Funke und Schraut, 1998; Hesch et al., 1997).

Mögliche Therapieschemen hängen vor allem von der TNM-Klassifikation des Tumors, des Hormonrezeptorstatus und des Menopausenstatus ab. In Kombination zur chirurgischen Therapie stehen Radiatio, adjuvante und neoadjuvante Chemotherapieprotokolle sowie antihormonelle Therapien zur Verfügung. Eine neue

Therapieoption stellt die Antikörpertherapie mit Herceptin® bei Überexpression des Tumors von HER-2/neu-Rezeptoren dar (Konecny et al., 1999).

2.1.2.4 TUMORNEOANGIOGENESE

Bis zu einem Tumorgewicht von etwa einem Milligramm werden die Zellen maligner Tumoren durch Diffusion aus dem umgebenden Gewebe mit Nährstoffen versorgt. Grundsätzlich verfügen Tumorzellen -außer Gefäßtumoren- selbst nicht über eine angiogenetische Potenz (Folkman, 1992). Angiogenetische Faktoren werden daher z.B. unter dem Einfluß lokaler Hypoxie aus Makrophagen freigesetzt (Knighton et al., 1983). Daraufhin proliferieren bereits vorhandene, in das Tumolvolumen eingeschlossene Mikrogefäße. Schrittweise entstehen aus Endothelschläuchen, die vermutlich aus Venolen aussprossen, Tumorgefäße, welche je nach Grad der Differenzierung des Tumors stark vom Aufbau und den hierarchischen Regeln gesunder Gefäße differieren. Die Gefäße weisen einen fehlerhaften Wandaufbau und Kaliberschwankungen auf. Nicht-dichotome Aufteilung, arterio- und venovenöse Shuntbildung sowie Bildung von Lakunen im Interstitium führen zu einem uneinheitlichen Gefäßmuster (Less et al., 1991).

Die Tumorneoangiogenese beim Mammakarzinom ist einerseits für bildgebende Verfahren im Hinblick auf eine möglicherweise erleichterte Differentialdiagnose von Bedeutung (Lee et al., 1996; Weind et al., 1998). So können die Zunahme der Vaskularisation als auch funktionelle Störungen der Durchblutung anhand verschiedener Methoden der Dopplersonographie beurteilt werden, sofern die Gefäße größer als 40µm und damit sonographisch darstellbar sind (Delorme, 1998). Die dynamische Magnetresonanztomographie basiert auf dem pathophysiologischen Mechanismus der Extravasation von Blutbestandteilen bei gesteigerter Kapillarwandpermeabilität der neoangiogenetisch entstandenen Gefäße (Kaiser und Zeitler, 1989).

Andererseits wird kontrovers diskutiert, inwieweit die immunhistochemisch oder biochemisch nachweisbare angiogenetische Aktivität eines Tumors einen weiteren Prognosefaktor darstellt (Axelsson et al., 1995; Gasparini und Harris, 1995).

2.2 VERFAHREN ZUR DIAGNOSE VON MAMMATUMOREN

2.2.1 PALPATION UND INSPEKTION

Palpation und Inspektion durch Patientin oder Arzt sind wichtige Methoden in der Brustkrebsdiagnostik. Die Kombination der klinischen Untersuchung mit technischen Diagnosemethoden vermindert deren Rate an falsch-negativen Resultaten, vor allem bei jungen Patientinnen (Park et al., 2000). Eine Studie von Schleicher et al. zeigt, daß 71% der verdächtigen Befunde von den Patientinnen selbst ertastet wurden. 12% wurden durch den Arzt bei der klinischen Untersuchung palpiert, der verbleibende Teil wurde bei der routinemäßigen Mammographie diagnostiziert. Allerdings haben getastete Tumoren meist eine Größe von 2 cm bereits erreicht und weisen daher eine ungünstigere Prognose auf als Tumoren, die bei der Vorsorgeuntersuchung entdeckt werden (Schleicher, 1995).

2.2.2 MAMMOGRAPHIE

Eine etablierte Methode zur Erkennung von Brustkrebs ist die Mammographie in zwei Ebenen. Dabei wird jede Brust jeweils im kranio-kaudalen und im medio-latero-obliquen Strahlengang unter Kompression abgebildet. An die Mammographie wird der Anspruch erhoben, die sich nur gering in ihrer Strahlendichte unterscheidenden Bestandteile der Brust möglichst kontrastreich und mit einer hohen räumlichen Auflösung darzustellen. Dazu werden eine relativ energiearme Röntgenstrahlung sowie hochauflösende, strahlenempfindliche Film-Folien-Systeme eingesetzt. Die mittlere Parenchymdosis soll nach Empfehlung der Deutschen Gesellschaft für Senologie 5mGy möglichst nicht überschreiten (Jung, 1998).

Liegt ein Verdichtungsherd in mehreren Ebenen vor, werden Form, Randbeschaffenheit, Dichte des Herdes sowie Vorhandensein von Mikrokalk beurteilt und bei Bedarf Vergrößerungsaufnahmen angefertigt (D'Orsi und Kopans, 1993; Sickles, 1989). Karzinomverdacht besteht bei irregulär und unscharf begrenzten Herden. Ein hohes Risiko für das Vorliegen eines Karzinoms ist weiterhin nachgewiesen bei irregulären, linearen und sich verzweigenden Mikroverkalkungen sowie Gruppierungen hoher Polymorphie (Ciatto et al., 1987). Bei suspekten Befunden sollte zur weiteren Abklärung eine Feinnadel- oder Stanzbiopsie oder eine chirurgische Exzision durchgeführt werden.

Mit zunehmender Dichte des Drüsenparenchyms vor allem bei jungen Patientinnen sowie mastopathischen Veränderungen sinkt die Sensitivität der Mammographie. Karzinome ohne Mikrokalk können seltener erkannt werden. Additiv wird dann die Sonographie eingesetzt (Bassett, 2000).

Mit Hilfe der Mammographie können Karzinome deutlich vor der alleinigen körperlichen Untersuchung erkannt werden. Dies wird belegt durch große Studien wie z.B. die "Two-County" Studie und die Ergebnisse des "Breast Cancer Detection Demonstration Program" bei dem 91% der erfaßten Karzinome mammographisch erkannt und nur 58 % getastet werden konnten (Baker, 1982; Tabar et al., 1992). Die Diagnostik in kleineren Tumorstadien und die durch die nachfolgende Therapie ermöglichte Reduktion der Mortalität läßt keinen Zweifel am Stellenwert dieses Verfahren zu (Tabar et al., 1999). Dennoch ist die Einführung eines Mammographie-Screenings in der BRD weiterhin nur eine Empfehlung verschiedener Organisationen wie z. B. der Deutschen Röntgengesellschaft und der Deutschen Gesellschaft für Senologie (Konsensuskonferenz Bonn, 2000).

2.2.3 MAGNETRESONANZMAMMOGRAPHIE

Die Magnetresonanzmammographie (MRM) ist die jüngste Untersuchungsmethode in der Mammadiagnostik und erfolgt nativ sowie nach Gabe von Kontrastmittel. Die Patientin wird in Bauchlage untersucht, wobei die Mammae in speziell konzipierten Oberflächenspulen liegen (Kaiser und Zeitler, 1985).

Da das Verfahren kosten- und zeitaufwendig ist, wird es bei spezieller Indikationsstellung wie Zustand nach brusterhaltender Therapie, zur Differenzierung zwischen Narbe und Karzinom, zur Primärtumorsuche bei unverdächtiger Mammographie und Sonographie sowie zum präoperativen Ausschluß von Multizentrität eingesetzt (Kacl et al., 1998). Die Nativ-MRM stellt die Methode der Wahl zum Ausschluß eines Defektes von Silikonprothesen dar (Orel, 2000).

Bei der dynamischen MRM werden nach Applikation von Kontrastmittel (z.B. Gadolinium DTPA[®]) in definierten Zeitabständen Subtraktionsaufnahmen angefertigt. Das Kontrastmittel reichert sich aufgrund des Gefäßreichtums und der erhöhten Kapillarpermeabilität in Malignomen schneller und intensiver als im gesunden Gewebe an. Bei fehlender Anreicherung kann daher ein Karzinom ab einer Größe von 3mm mit

sehr hoher Wahrscheinlichkeit ausgeschlossen werden. Karzinomtypische Merkmale der Anreicherung des Kontrastmittels sind eine deutlich stärkere und unscharf begrenzte Anreicherung im Vergleich zum umgebenden Gewebe sowie eine rasche Anreicherung mit starker Intensitätszunahme. Der Verlauf der Anreicherung ist gekennzeichnet durch eine Signalerhöhung um über 90% in der ersten Minute, das Erreichen des Maximums innerhalb von zwei Minuten und eine nachfolgende Plateauphase bzw. Auswaschperiode. Invasive Karzinome sind ab einer Größe von 3 mm erkennbar (Kaiser, 1993).

2.2.4 MAMMASONOGRAPHIE

Technische Weiterentwicklungen haben zu wachsender Bedeutung der Sonographie in der klinischen Diagnostik geführt. Dieses im Vergleich zu anderen Methoden kostengünstige Diagnoseverfahren ist für Patienten risikolos und kann relativ zeitsparend in den klinischen Ablauf integriert werden. In der Mammadiagnostik stellt die Sonographie das wichtigste additive Untersuchungsverfahren zur Mammographie dar (Bassett, 2000). Außerdem ist sie führende Technik in der interventionellen Diagnostik. Feinnadelstanzbiopsien werden sonographisch gesteuert. Als neues Verfahren wird momentan die ablativ Kryotherapie von Mammatumoren unter Ultraschallkontrolle erprobt (Fornage, 2000). Im folgenden werden die Möglichkeiten des Einsatzes der verschiedenen Ultraschalltechniken in der Brustkrebsdiagnostik dargestellt.

2.2.4.1 B-BILD-SONOGRAPHIE

Wurde die Mammasonographie früher vor allem zur Zystendiagnostik eingesetzt, ist ihr Stellenwert durch verbesserte Technik der letzten Jahre gestiegen (Fornage, 2000). Ergänzend zur Mammographie können z.B. Multifokalität und Infiltration des umgebenden Gewebes bei suspekten Herdbefunden weiter beurteilt werden. Exzentrische Bereiche sowie axilläre Lymphknoten sind je nach Lage besser einsehbar als in der Mammographie (Lernevall, 2000). Primär kann die Sonographie bei jungen Patientinnen eingesetzt werden, wenn aufgrund des dichten Drüsenkörpers eine Mammographie keinen diagnostischen Vorteil erbringt (Hackeloer, 1998).

Empfohlen wird die Verwendung mittel- bis hochfrequenter Linearschallköpfe (7,5-13 MHz). Die Patientin befindet sich in Rückenlage, wobei der Arm der zu untersuchenden

Seite hinter dem Kopf verschränkt wird. Beim systematischen Abfahren der Brust mit dem Schallkopf beurteilt der Untersucher Form und Begrenzung des Herdes. Gutartige Tumoren verlagern das umgebende Gewebe meist (sogenanntes Kapselecho), wohingegen bei invasiven Karzinomen die bestehende Matrix zerstört wird (Teubner et al., 1993). In der Differentialdiagnose werden neben der Echotextur des Tumors dorsales Schallverhalten sowie laterale Randschatten beurteilt. Diese Merkmale sind je nach histologischem Typ und der Impedanzunterschiede der beteiligten Strukturen ausgeprägt (Tavassoli et al., 1997). Komprimierbarkeit und Verschieblichkeit des Tumors sowie horizontale Ausrichtung der Tumorachse sind Zeichen für Benignität (Cox et al., 1998). Mikrokalk kommt, sofern größer als die Länge der Ultraschallwellen, zur Darstellung und kann als echodichter Reflex und je nach Größe mit dorsaler Schallauslöschung erscheinen. Vor allem bei größeren Mikrokalkansammlungen (sogenannten Clusters) besteht die Möglichkeit der Erkennung der Verkalkung (Moon et al., 2000).

2.2.4.2 DOPPLERSONOGRAPHISCHE VERFAHREN

Eine zusätzliche Möglichkeit der Differenzierung unklarer Prozesse bietet die Doppler-Sonographie, welche auf dem Doppler-Prinzip beruht. Treffen Ultraschallwellen auf bewegte Korpuskel wie z.B. Erythrozyten, kommt es zur Frequenz- und Amplitudenverschiebung der reflektierten Welle. Die Frequenzverschiebung wird als Dopplershift bezeichnet. Diese Verschiebungen sind proportional zur Flußgeschwindigkeit bzw. dem Energiebetrag der Bewegung und können akustisch, in Wellenform oder farbkodiert dargestellt werden (Sohn et al., 1997).

Die ersten Sonographien von Blutgefäßen wurden mit dem Continuous Wave-Doppler (CW-Doppler) durchgeführt. Eine Kurve bzw. akustische Signale geben hier kontinuierlich den Fluß wieder, wobei kein B-Bild generiert wird. Eine Tiefenselektion ist nicht möglich. Eine Weiterentwicklung stellt die Duplexsonographie dar, welche Dopplerkurve und B-Bild kombiniert. Durch periodisches Senden wird die Tiefenselektion ermöglicht. Bei der farbkodierten gepulsten Doppler-sonographie (FKDS) werden die empfangenen Dopplersignale je nach empfangener Frequenz des rückgestrahlten Schalls durch Farben und verschiedene Helligkeitsstufen kodiert, um die Flußrichtung und die Geschwindigkeit darzustellen. Der Untersucher kann direkt am farbkodierten Gefäß die Dopplerkurve und somit das Flußprofil des Gefäßes darstellen

(Dudwiesus, 1995). Ein weiteres Verfahren ist der Power-Doppler (Ultraschallangiographie), bei welchem im Vergleich zur FKDS die Darstellung der Amplitudendifferenz des reflektierten Schalls erfolgt. Es werden im Vergleich zum FKDS langsamere Geschwindigkeiten artefaktärmer, jedoch nicht richtungskodiert dargestellt (Sohn et al., 1997).

Untere Grenze der Darstellbarkeit sind Flußraten von etwa 1cm/s sowie Gefäßdurchmesser bis 40µm (Delorme et al., 1999). Die Empfindlichkeit in diesen Bereichen wird durch Bewegungsartefakte bei entsprechend empfindlicher Geräteeinstellung limitiert. Somit wird in der Regel die kapilläre Strombahn nicht erfaßt (Delorme, 1998).

2.2.4.3 ECHOSIGNALVERSTÄRKER

Durch Verwendung von sogenannten Echosignalverstärkern kann die geringe Sensitivität dieser Verfahren für langsame Flußraten in kleinkalibrigen Gefäßen erheblich gesteigert werden (Delorme, 1998).

Prinzipiell wird durch die intravenöse Applikation lufthaltiger Mikroblasen, welche durch Schütteln einer Suspension entstehen, eine vermehrte Reflexion der Schallwellen erreicht. Dieser Mechanismus wird als „backscatter-effect“ bezeichnet (Burns, 1994). Signalverstärkungen von 15-25 dB sind möglich. Es bestehen verschiedene Möglichkeiten der chemischen Zusammensetzung des Mantels der Mikrobläschen. Die Blasen sind z.B. von einem Albuminmantel umgeben (Albunex[®], Molecular Biosystems, San Diego). Beim Signalverstärker SHU 508 A (Levovist[®], Schering AG, Berlin) wird eine Galaktosehülle durch Palmitinsäure stabilisiert. Dies verbessert die Haltbarkeit der Bläschen während der Kapillar- und Lungenpassage. Dadurch sind Untersuchungszeiten von 8-10 Minuten möglich (Schlief und Bauer, 1996; Schurmann und Schlief, 1994). Momentan wird eine dritte Generation von Echosignalverstärkern entwickelt, deren Bläschen anstelle von Luft mit anderen Gasen gefüllt sind. Durch schlechtere Löslichkeit dieser Gase im Blut wird die Untersuchungszeit verlängert und die Echoverstärkung ist noch größer. Einige dieser Wirkstoffe sollen auch zu einer Verstärkung der Grauwertsignale hochvaskularisierter parenchymatöser Organe führen (Albrecht, 1998).

2.2.4.4 AUSWERTUNG NACH GABE VON ECHOSIGNALVERSTÄRKERN

Nach intravenöser Applikation des Echosignalverstärkers kann sowohl die quantitative Zunahme von Farbsignalen im untersuchten Gewebe als auch die Dynamik der Signalveränderung entweder rein deskriptiv oder computerassistent beurteilt werden (Huber et al., 1998). Die wissenschaftlichen Untersuchungen der Dynamik der Anflutung basieren auf der Annahme, daß aufgrund des andersartigen Aufbaus der Gefäße in malignen im Vergleich zu benignen Tumoren in diesen Gefäßen veränderte Eigenschaften des Blutflusses vorliegen (Bell et al., 1995).

Autoren früherer Studien analysierten die Anflutung deskriptiv, so z.B. Kedar et al. (Kedar et al., 1996). Diese Gruppe beschrieb anhand der Auswertung von Videoaufnahmen die Zeit von Bolusstart bis zur maximalen Intensitätszunahme der Farbpixel.

Bei der computerassistenten Auswertung kann die Anflutung des Signalverstärkers durch Quantifizierung der Farbsignale im Tumorgebiet im zeitlichen Verlauf präziser beurteilt werden und als Intensitäts-Zeit-Kurve dargestellt werden. Huber et al. und Bell et al. beschreiben diese Option als Color Pixel Density (CPD) bzw. Percentage Colour Doppler Area (%CDA) (Bell et al., 1995; Huber et al., 1994).

Die Analyse des Mittelwertes der Farbpixel berücksichtigt darüber hinaus auch Flußrichtung und Flußgeschwindigkeit. Bei der Mittelwertbildung der Farbpixel wird jeder identifizierte Farbpixel entsprechend der angegebenen Farbskala dekodiert, also wieder der Flußgeschwindigkeit zugeordnet, die an entsprechender Stelle im Tumorgefäß zu einem Dopplershift führte. Dies entspricht dem Farbwert des jeweiligen Farbpixels. Nach der Formel

$$MCV = (1/N_{\text{color}}) \sum_{i=1}^N |CV_i|$$

(N_{color} = Anzahl der Farbpixel innerhalb der ROI, CV = Color Value (Farbwert, lokale Flußgeschwindigkeit, welcher die Farbe des Pixels zugeordnet wird) wird der mittlere Farbwert innerhalb der ROI berechnet (Delorme, Weisser et al., 1995). Aufgrund der Berechnung anhand des Betrages des Farbwertes heben sich entgegengerichtete Flußrichtungen in der gegebenen Formel nicht gegenseitig auf. Dieser Parameter entspricht der Mean Colour Velocity (MCV) bei Bell et al. (Bell et al., 1995). Der MCV wird ebenfalls im zeitlichen Verlauf als Kurve dargestellt.

2.2.4.5 3D-ULTRASCHALL

Dieses innovative Verfahren nahm in den letzten Jahren Einzug in den klinischen Ablauf der Diagnostik (Downey et al., 2000). Im Vergleich zur 3D-CT bzw. 3D-MRT besteht die Schwierigkeit dieser Untersuchungen vor allem darin, daß aufgrund des Gleitens des Schallkopfes über die Körperkontur eine parallele Schnittbildführung theoretisch möglich ist, in der klinischen Praxis jedoch je nach zu untersuchender Körperregion nur mit Hilfe aufwendiger Installationen realisiert werden kann (Moskalik et al., 1995).

Gegenwärtig werden zwei verschiedene 3D-Systeme angeboten. Dies sind integrierte 3D-Ultraschallgeräte sowie externe rechnergestützte Systeme mit Sensortechnologie (Nitsch et al., 1997). Bei der ersten Methode werden elektronische Schallköpfe mit Breitbandtechnologie verwendet, die über eine eingebaute Mechanik den Volumensatz generieren. Der Schallkopf wird hierbei nicht bewegt und die Nachrekonstruktion dauert eine bis wenige Sekunden. Der Datensatz besteht aus Volumenpixeln, sogenannten "Voxeln" (Nitsch et al., 1997). Bei den externen rechnergestützten Geräten wird der konventionelle Schallkopf mit einem Sensor in einem gepulsten elektromagnetischen Feld bewegt, der externe Computer verarbeitet dann die Daten (Cesarani et al., 1999). Der Weg von Aufnahme zur Darstellung ist momentan in 5 Schritte wie folgt gegliedert: Datenakquisition, Datendigitalisierung, Datenspeicherung, Verarbeitung und Darstellung des untersuchten Organs (Gilja et al., 1999). Für die Befundung sind die Optionen der Nachverarbeitung wichtig. Je nach untersuchtem Organ werden Modalitäten wie Transparenz oder Oberflächendichte verändert (Maymon et al., 2000). Diese neue Untersuchungsmethode wird z.B. in der Fehlbildungsdiagnostik in der Geburtshilfe (Johnson et al., 2000), in der transvaginalen Sonographie (Maymon et al., 2000) sowie der Untersuchung von Brusttumoren angewandt (Rotten et al., 1999). Mit Hilfe der dreidimensionalen Rekonstruktion komplexer Strukturen wird der Untersucher in Situationen unterstützt, in denen bei bloßer Aneinanderreihung der zweidimensionalen Schnittbilder während eines Scans das menschliche räumliche Vorstellungsvermögen überfordert ist. Durch Drehen des virtuellen Gewebblocks und Einstellen von Schnittachsen werden Perspektiven einsehbar, die in der konventionellen Sonographie nicht darstellbar sind (Fenster et al., 2001).

3 MATERIAL UND METHODE

3.1 PATIENTINNENKOLLEKTIV

Am Institut für Diagnostische und Interventionelle Radiologie der Universität Jena wurden in Folge 48 Patientinnen mit 49 Tumoren untersucht. Eingangskriterium war ein sonographisch nachweisbarer solider Brusttumor. Die Patientinnen stellten sich zur histologischen Abklärung dieses Herdbefundes in der Frauenklinik der Friedrich-Schiller-Universität Jena vor (33 Patientinnen) oder wurden im Rahmen der Diagnostik in der Mammographieabteilung des diagnostischen Instituts stanziobiotisch abgeklärt. Vor der Untersuchung wurden die Frauen nach Ausschluß von Kontraindikationen über den Untersuchungsablauf informiert. Alle Patientinnen haben der Untersuchung schriftlich zugestimmt (Patienteninformation siehe Anlage 1).

3.2 HISTOPATHOLOGISCHE UNTERSUCHUNG

Die histopathologische Untersuchung der Biopsiepräparate und Resektate erfolgte am Institut für Pathologie der Friedrich-Schiller-Universität in Jena. Hierzu wurden 3-4mm dicke Gewebsschnitte in Paraffin eingebettet, die dann als Präparate in 4-5µm Schichtdicke in einer Hämalaun-Eosin-Färbung (HE) ausgewertet wurden.

3.3 UNTERSUCHER

Die Patientinnen wurden von einem Radiologen untersucht, der auf dem Gebiet der Mammasonographie spezialisiert ist. Der Untersucher führte den Schallkopf während der Datenakquisition und betätigte einen Fußschalter zum Starten und Beenden der Aufnahme. Ein Assistent verabreichte den Echosignalverstärker und bediente den PC.

3.4 ECHOSIGNALVERSTÄRKER

Der in der vorliegenden Arbeit verwendete Echosignalverstärker SHU 508 A (Levovist[®], Schering AG, Berlin) basiert auf von einer Galaktosehülle umgebenen Luftbläschen, welche mit Palmitinsäure stabilisiert wird (1g Granulat enthält 999mg D-Galaktose und 1mg Palmitinsäure). Der mittlere Durchmesser der Bläschen beträgt 5µm. 97% sind kleiner als 7,5µm. Der Lufteinschluß erfolgt durch kräftiges Schütteln

von 2,5g Granulat mit 5ml Aqua dest.. Die bläschenhaltige Suspension wurde nach zwei Minuten kubital i.v. verabreicht (Vasofix® Braunüle, 20G). Die Halbwertszeit der Bläschen beträgt etwa acht Minuten. Danach geht die Galaktosehülle in Lösung, sofern die Bläschen nicht bereits im Rahmen der Untersuchung durch die Ultraschallwellen zerstört wurden. In Abhängigkeit von der Leberfunktion können die Werte der D-Galaktose-Bestimmungen erhöht sein. Die Anwendung von Levovist® ist kontraindiziert bei Galaktosämie, schwerer Herzinsuffizienz (NYHA III und IV), schwerer Lungenerkrankungen sowie in der Schwangerschaft. Als Nebenwirkungen können während der Injektion Wärme- und Kältegefühl am Injektionsort auftreten. In Einzelfällen wurde in der Literatur über Geschmacksirritationen, Luftnot, Änderung der Kreislaufparameter, Übelkeit und Erbrechen berichtet.

Den Patientinnen wurden jeweils im Liegen 5ml als Bolus zur Analyse des Anflutungsverhaltens sowie 10ml derselben Konzentration (400mg/ml) zur 3D-Darstellung der Gefäße in die linke Kubitalvene i.v. injiziert. Es wurden manuell jeweils 5ml als Bolus, bei der 3D-Messung die weiteren 5ml mit einer Geschwindigkeit von 1ml/s einschleichend dosiert.

3.5 ULTRASCHALLGERÄT

Die Patientinnen wurden mit einem Sonoline Elegra Advanced® Ultraschallgerät (Siemens AG, Erlangen, Deutschland) untersucht. Es wurde eine 7,5 MHz Linear-Array-Sonde verwendet.

3.6 HARD- UND SOFTWARE

Die SVHS-Video-Signale des Ultraschallgerätes wurden mit Hilfe eines Matrox Meteor Framegrabbers (Digitalisierungskarte des PCs) digitalisiert und an einem PC der Firma Siemens AG, Erlangen, Deutschland, weiterverarbeitet (Konfiguration: zwei 200MHz Prozessoren, 3,4GB Festplattenspeicher und 64MB RAM Arbeitsspeicher).

Zur Quantifizierung des Farbsignals bei der Anflutung des Signalverstärkers wurde das Softwareprogramm QuantiCon®, Version 2.06 (3D EchoTech®, Hallbergmoos, Deutschland) verwendet. Da die Untersuchung in der farbkodierten Dopplersonographie nach Gabe von Levovist® erfolgte, kann man die Anflutung als Zunahme der Farbintensität in der vom Untersucher gewählten Tumorebene (größter

Tumordurchmesser) erkennen. Während der gesamten Aufnahmezeit wird diese Ebene des Tumors dargestellt. In einer wählbaren Bildrate werden die zweidimensionalen Einzelbilder dieser Schallebene aneinandergereiht. Bei der vorliegenden Untersuchung wurde eine Bildrate von 2 Bildern pro Sekunde gewählt. Es entsteht ein Quader, dessen dritte Dimension die Zeit ist. Im Datensatz können beliebige zu analysierende Regionen, sogenannte Regions of Interest (ROI), definiert werden. Innerhalb dieser Zonen kann wahlweise die absolute Anzahl bzw. der Mittelwert der Grauwerte bzw. der Farbpixel im zeitlichen Verlauf als Kurve dargestellt werden. Mit Hilfe eines Filters werden die numerischen Daten exportiert und in Form einer statistischen Kurve dargestellt.

Zur 3D-Datenakquisition wurde das externe Freihandsystem 3D FreeScan[®], Version 2.06 der Firma 3D EchoTech[®] (Hallbergmoos, Deutschland) eingesetzt. Dem System zugrunde liegt das Prinzip der Aneinanderreihung zweidimensionaler Bilder, die mit einer gewählten Bildrate (hier 6 Bilder pro Sekunde) während des Entlanggleitens des Schallkopfes über eine Region aufgenommen werden. Daraus wird ein dreidimensionales Bild rekonstruiert. Das System beinhaltet eine elektromagnetische Sensoreinheit, bestehend aus einem Transmitter, der ein elektromagnetisches Feld aussendet, und einem Feldempfänger. Zur Datenaufnahme kann der Positionssensor am Schallkopf befestigt bis zu einem Abstand von einem Meter frei über dem Transmitter bewegt werden. Während der Messung berechnet die Sensoreinheit mit einer Frequenz von etwa 100Hz einen Satz von 3 räumlichen und 3 Winkelwerten. Diese Werte beschreiben die Position des Schallkopfes im Raum. Gleichzeitig werden die Bilder digitalisiert und gespeichert. Nachfolgend werden die akquirierten zweidimensionalen Bilder in ein kartesisches Koordinatensystem mit Hilfe der Raum- und Winkelwerte transformiert. Nach diesem Schritt stehen vielfältige Verarbeitungsmöglichkeiten zur Verfügung.

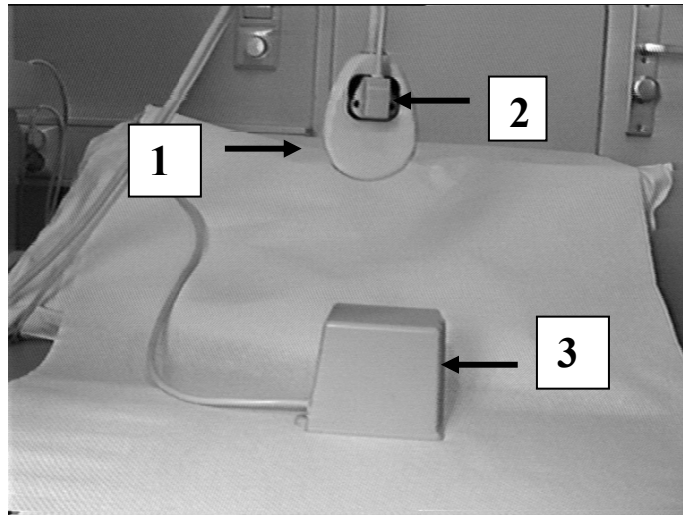


Abbildung 1: Datenakquisitionset der Firma 3D EchoTech® (Halbergmoos, Deutschland) zur Aufnahme der 3D-Volumina. An der Ultraschallsonde (1) wurde der **Positionssensor (2)** befestigt, der während der Aufnahme innerhalb eines Radius von 1m vom **magnetischen Transmitter (3)** bewegt werden kann. Der Transmitter wird neben der Patientin in Armhöhe auf der Untersuchungsliege platziert.

3.7 ABLAUF DER UNTERSUCHUNG UND WAHL DER GERÄTEPARAMETER

Nachdem sich der Untersucher mit der B-Bild-Sonographie einen Überblick über die Brustveränderung verschafft hatte, wurde der Tumor in den drei Ebenen des Raumes ausgemessen.

Entsprechend dem Untersuchungsprotokoll (Tabelle 1) wurden während des ersten Untersuchungsschritts im Programm QuantiCon® die Daten der Kontrastmittelanflutung erfaßt. Dazu suchte der Untersucher die Ebene des größten Tumordurchmessers auf. Bei Beginn der Injektion von 5ml Levovist® (400mg/ml) durch den Assistenten wurde die Datenakquisition gestartet. Mit einer Bildrate von 2 Bildern pro Sekunde wurden die ersten zwei Minuten nach der Injektion in der gewählten Tumorebene erfaßt. Entsprechend der Optionen des Softwareprogramms wurde der Modus des Halbbildes gewählt.

Den zweiten Teil der Untersuchung bildete die dreidimensionale Aufnahme des Tumors nach Gabe von Levovist® in der FKDS im Programm 3D FreeScan®. 10ml der Suspension (400mg/ml) wurden injiziert, wobei die Hälfte der Lösung als Bolus, der Rest kontinuierlich mit einer Geschwindigkeit von 1ml/s verabreicht wurde. Die Datenakquisition erfolgte etwa 20s nach Bolusgabe. Es ist wichtig, Bewegungsartefakte

seitens der Patientin sowie des Untersuchers zu vermeiden. Beim ersten Teil der Untersuchung, der Analyse der Anflutungsdynamik, wurden die Patientinnen aufgrund des langen Untersuchungszeitraumes von etwa einer Minute daher aufgefordert, flach zu atmen. Der Untersucher fixierte den Schallkopf starr über der zu untersuchenden Region. Die 3D-Datenakquisition erfolgte durch ein geradliniges Entlanggleiten mit möglichst konstant langsamer Geschwindigkeit in Apnoe. Bei dichtem, leicht verschieblichem Tumorknoten wurde durch Fixieren des Drüsenkörpers mit der freien Hand des Untersuchers ein Weggleiten des Tumors unter dem Schallkopf verhindert. Die Geräteparameter sind der folgenden Tabelle zu entnehmen. Die Einheiten sind dabei entsprechend den herstellerspezifischen Geräteparametern angegeben.

Tabelle 1: Untersuchungsprotokoll (*=siehe Diskussion, 5.1.7)

<u>Untersuchung</u>	<u>Einstellung PC</u>	<u>Siemens Sonoline Elegra®</u>
2D: Anflutung des Echosignalverstärkers Injektion von 5 ml Levovist® (400mg/ml) als Bolus per Hand. Messung beginnt mit Bolusgabe	QuantiCon® <u>Protokoll Parameter:</u> Farbe Auflösung: 2 Bps Halbbild	7,5 MHz Linear Array Schallkopf FKDS-Modus Auflösung: 14 Bps Filter: 7 PRF: 868Hz Color Gain: ~70 dB * Leistung: 63%
3D-Darstellung mit Echosignalverstärker Injektion von 10 ml Levovist® (400mg/ml), davon 5ml als Bolus, 5ml einschleichend (etwa 1ml/s). Per Hand. Messung beginnt 20s nach Bolusgabe	3D FreeScan® <u>Protokoll Parameter</u> Farbe Auflösung: 6 Bps Halbbild	7,5 MHz Linear Array Schallkopf FKDS-Modus Auflösung 14 Bps Filter: 7 PRF: 868Hz Color Gain: ~70 dB Leistung: 100% *

3.8 BEARBEITUNG DER DATEN

3.8.1 2D-DATEN, ANFLUTUNGSPARAMETER

Um die statistische Kurve der Zunahme des prozentualen Anteils (Color Pixel Density, CPD) und des Mittelwertes der Farbpixel (Mean Color Value, MCV) tumorzentral und tumorperipher nach Gabe von Levovist[®] zu erstellen, wurden bei jedem Tumor in der untersuchten Tumorebene zwei Regions of Interest (ROI) bestimmt (Abbildung 2). Mit dem Cursor grenzte man eine ROI zur Darstellung des Signalanstieges im Tumorzentrum ein, wobei die sonographisch erkennbaren Tumorgrenzen umfahren wurden (blaue Markierung, Abbildung 2). Die zweite ROI umgibt einen Teil des tumorangrenzenden Gewebes. Per Definition wurde bei jedem Tumor ein 1cm breiter Ring angrenzend an die ROI des Tumorzentrums eingezeichnet (grüne Markierung, Abbildung 2).

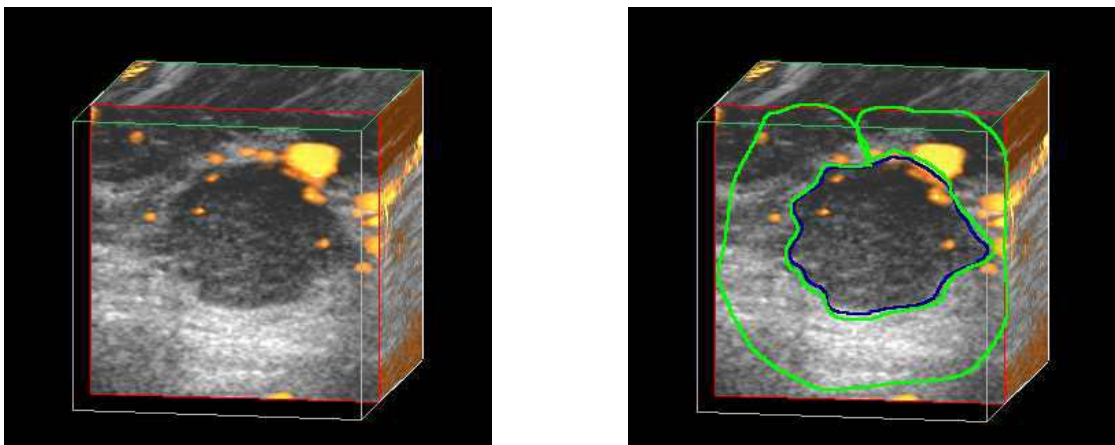


Abbildung 2: Darstellung eines zweidimensionalen Datensatzes der Anflutung von Levovist[®] im zeitlichen Verlauf bei einem Fibroadenom. Links: vor Markierung, rechts: nach Markierung der Regions of Interest. Blaue Markierung: Sonographisch erkennbare Tumorgrenzen, grüne Markierung: Umgebung des Tumors, 1cm breiter Mantel um die Tumorgrenzen. Am rechten Bildrand erkennbar die eingeschränkte Verwertbarkeit des Randsaumes, da die Größe des Farbfenster des Farbdopplers hier nur einen Randsaum < 1cm zuläßt.

Mit Hilfe des Programms QuantiCon[®] konnte dann der zeitliche Verlauf der Intensität und der Anzahl der Farbpixel berechnet werden. Es wurden jeweils die Daten der ersten Minute der Aufnahme Software Programm Excel[®] übernommen. Die weitere Auswertung erfolgte anhand der graphischen Darstellung der Daten.

3.8.1.1 MEAN COLOR VALUE MCV (2D)

In den beiden folgenden Abbildungen (Abbildung 3 und 4) wird die Definition der untersuchten Kurvenparameter des zeitlichen Verlaufes des MCV am Beispiel der Anflutung des Fibroadenoms aus Abbildung 2 erläutert. Zur besseren Übersicht ist hier nur die Anflutungskurve des Tumorzentrums dargestellt.

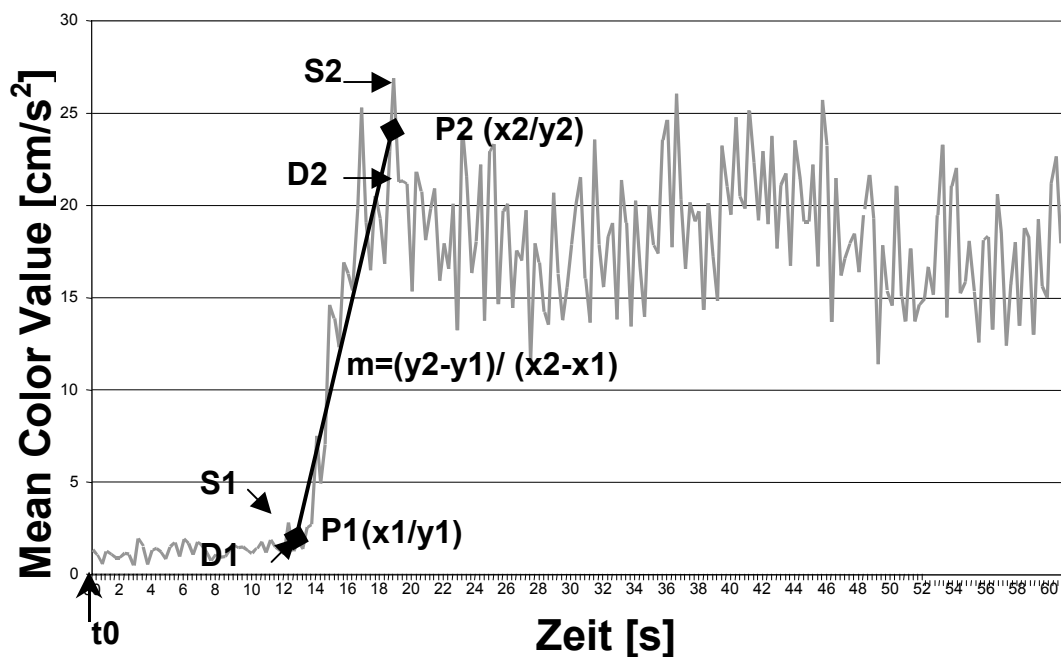


Abbildung 3: Definition der Anstiegsgeraden der Kurve des zeitlichen Verlaufs des MCV nach Gabe von Levovist® im Zentrum des Fibroadenoms aus Abbildung 2. Die Anstiegsgerade verläuft durch die Punkte P1 und P2. Sie werden jeweils durch Mittelwertbildung der Koordinaten von S1 und D1 sowie S2 und D2 ermittelt und stellen den Beginn und das Maximum der Anflutung dar.

Die Aufnahme beginnt mit der Bolusgabe zum Zeitpunkt $t=0$. Als "Anstieg der Kurve" wurde der Anstieg der Geraden definiert, welche die Punkte $P1(x1/y1)$ und $P2(x2/y2)$ miteinander verbindet (siehe Abbildung 3). Diese Punkte wurden vom Untersucher und dem Assistenten im Konsensus bestimmt. Die Koordinaten von P1 ergeben sich jeweils aus dem Mittelwert der x- bzw. y-Werte der Punkte S1 und D1. Diese Punkte stellen die letzte systolische bzw. diastolische Oszillation der Kurve vor dem eindeutigen Signalanstieg dar.

P2 wird entsprechend aus den Mittelwerten der x- bzw. y-Werte von S2 und D2 ermittelt. Für P2 wurden jeweils die beiden Punkte S2 und D2 gewählt, bei denen die Mittelwertbildung ihrer y-Werte den höchsten Wert im Kurvenverlauf ergeben. Abbildung 4 verdeutlicht die berechneten Parameter der Anflutungskurven.

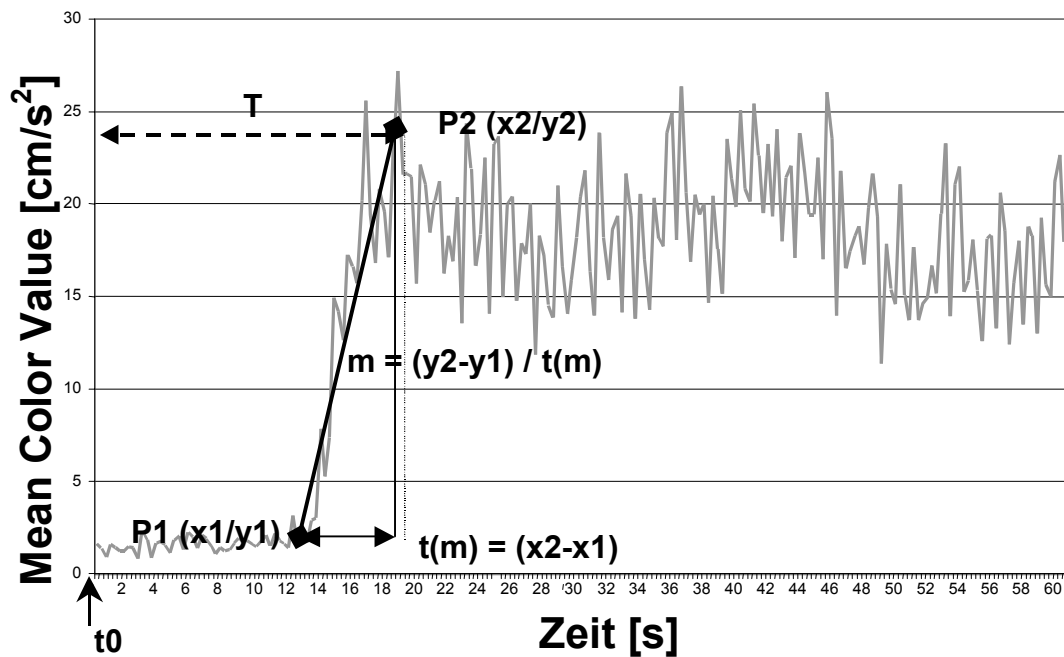


Abbildung 4: Definition der Anflutungsparameter der Kurve des zeitlichen Verlaufs des MCV nach Gabe von Levovist® im Zentrum des Fibroadenoms aus Abbildung 2. Bestimmt wurden die Steigung m der Geraden, die Anstiegszeit $t(m)$ sowie die Anflutungszeit T von Bolusgabe t_0 bis zum Maximum der Anflutung.

Die Steigung m der Geraden ergibt sich aus der Formel

$$m = (y_2 - y_1) / (x_2 - x_1) \text{ [cm/s}^2\text{]}.$$

Die Anstiegszeit $t(m)$ (Zeit zwischen P1 und P2) wurde mit

$$t(m) = x_2 - x_1 \text{ [s]}$$

berechnet, die Anflutungszeit T [s] entspricht x_2 .

3.8.1.2 COLOR PIXEL DENSITY CPD (2D)

Neben dem mittleren Farbwert kann im Programm QuantiCon[®] die absolute Anzahl der Farb- bzw. Graupixel einer Fläche dargestellt werden. Anhand folgender Formel wurde für jeden Zeitpunkt die Color Pixel Density (CPD) als prozentualer Anteil der Farbpixel bezogen auf die Gesamtfläche der eingezeichneten ROI berechnet:

$$\text{CPD} = \text{Anzahl Farbpixel} / (\text{Anzahl Farbpixel} + \text{Anzahl Graupixel}) [\%].$$

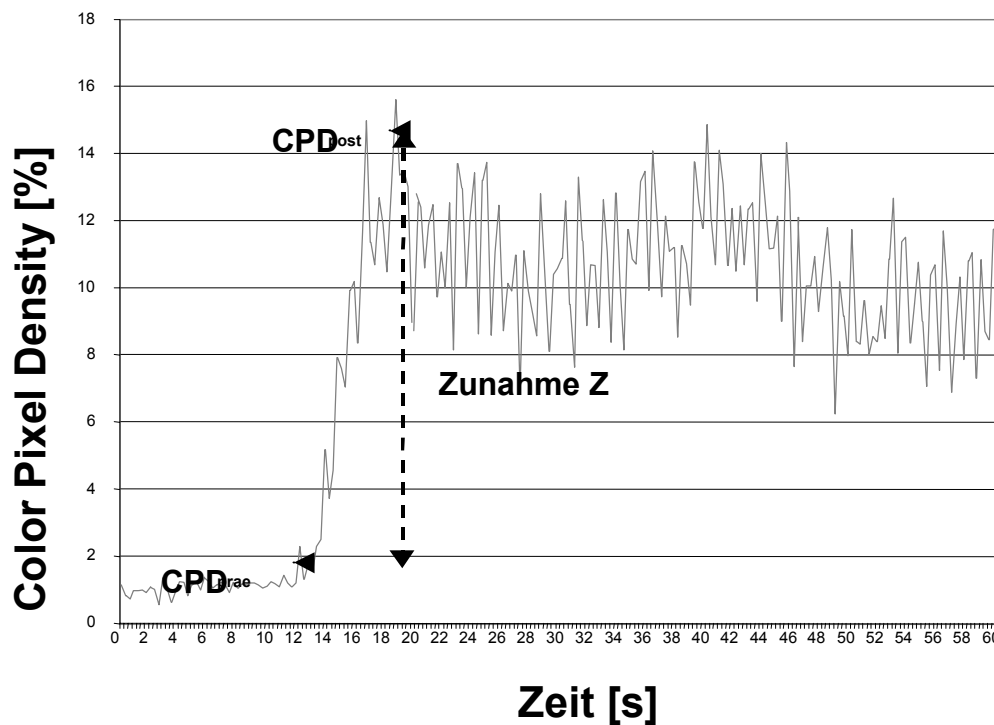


Abbildung 5: Definition der Anflutungsparameter der Kurve des zeitlichen Verlaufs der CPD nach Gabe von Levovist[®] im Zentrum des Fibroadenoms aus Abbildung 2. Die x-Werte von CPD_{prae} und CPD_{post} entsprechen denen der Punkte P1 und P2. Die **Zunahme Z** wird aus der Differenz der y-Werte von CPD_{prae} und CPD_{post} berechnet.

Die Anflutungszeit T sowie Anstiegszeit $t(m)$ entspricht den ermittelten Zeiten der Kurven des MCV (siehe Abbildung 4). Die x-Werte der Punkte P1 und P2 der Kurven des MCV wurden verwendet, um anhand der jeweiligen y-Werte die Farbpixeldichte vor und nach Anflutung des Echosignalverstärkers zu ermitteln (CPD_{prae} und CPD_{post}). Die Differenz ergibt die Zunahme (Z) der CPD (Abbildung 5):

$$Z = \text{CPD}_{\text{post}} - \text{CPD}_{\text{prae}} [\%].$$

3.8.1 3D-DATEN

3.8.2.1 VOLUMENBESTIMMUNG CVD (3D)

Mit Hilfe des Softwareprogramms 3D FreeScan[®] kann durch Segmentation ein Teilvolumen des während der Aufnahme akquirierten Volumenblocks bestimmt werden. Dazu wird der Volumenblock Schicht für Schicht aufgearbeitet. Eine neue Region of Interest (ROI) wird immer dann mit dem Cursor bestimmt, wenn sich die sonographisch erkennbare Tumorfläche im Vergleich zu den vorhergehenden Schichten des Tumors verändert hat. Es entstehen "Zylinderscheiben", deren jeweilige Volumina vom PC berechnet und addiert werden (Abbildung 6). Um die Gefäßstruktur in der Umgebung des Tumors beurteilen zu können, wurde in einem zweiten Arbeitsgang eine zweite Fläche eingezeichnet, die den Tumor zuzüglich eines Randes von 1cm umfaßt.

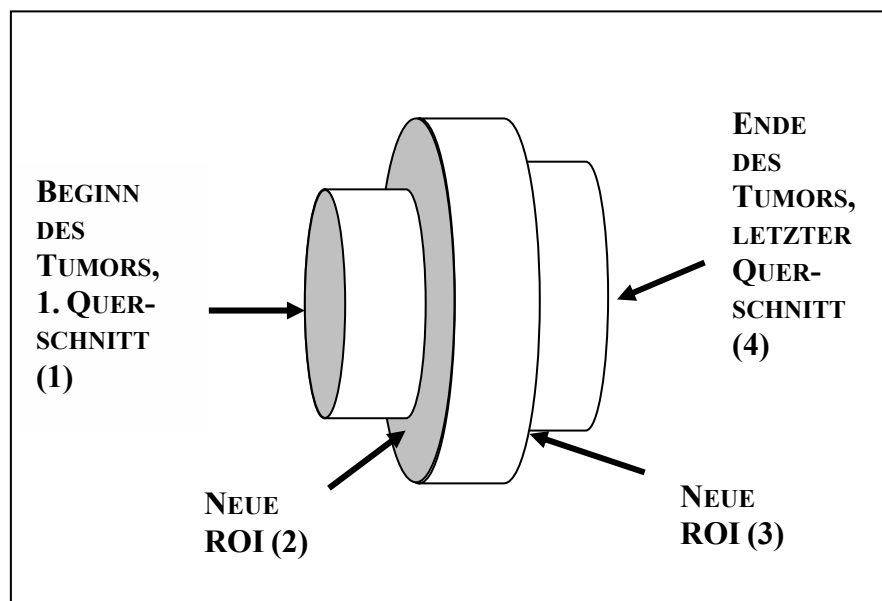


Abbildung 6: Prinzip der Volumensegmentation zur Näherung des Tumolvolumens. Der 3D-Volumenblock wird Schicht für Schicht aufgearbeitet. Nachdem am Anfang des Tumors die erste ROI eingezeichnet wurde (1), werden die Tumorgrenzen immer dann neu markiert, wenn sie sich im Vergleich zur letzten ROI verändert haben (2,3,4). Es entstehen Zylinder, deren addiertes Gesamtvolumen näherungsweise dem Tumolvolumen entspricht (Vergleiche Abbildung 10)

Mit Hilfe der Software können innerhalb der eingegrenzten Region des Tumors jeweils die Gesamtmenge aller schwarzen und weißen Bildpunkte sowie der Farbpixel errechnet werden. Während der Datenakquisition wird eine Referenzentfernung entsprechend der Skalierung im Ultraschallbild festgelegt. Da ein Volumenpixel

(Voxel) ein definiertes Volumen besitzt, wird anhand der festgelegten Referenzgröße, der Schichtdicke der Zylinderscheiben und der erfaßten Raumkoordinaten aus der ermittelten Voxelmenge das dargestellte Volumen berechnet.

Im Ultraschallbild kodiert ein Pixel entweder für einen Farb- oder einen Grauwert. Daher werden zur Berechnung des sonographisch erkennbaren Tumorumfanges Grauwert- und Farbwertvolumen addiert.

$$\text{Sonographisch erkennbares Tumorumfang} = \text{Grauwertvolumen} + \text{Farbvolumen} \text{ [ml]}.$$

Der Farbanteil am Gesamtvolumen des Tumors (Color Voxel Density, CVD) wird anhand folgender Gleichung berechnet:

$$\text{CVD} = \text{Farbvolumen} / \text{sonographisch erkennbares Tumorumfang} \text{ [\%]}.$$

3.8.2.2 GEFÄßMORPHOLOGIE (3D)

Um eine deskriptive Beurteilung der Farbsignale im Tumor sowie im Gewebe der Umgebung zu ermöglichen, wurden alle Bildpunkte außerhalb des markierten Tumors und des Randsaums in der Nachverarbeitung ausgeblendet. Somit kam nur das segmentierte Tumervolumen mit dem Volumenmantel zur Darstellung. Zur Beurteilung der räumlichen Anordnung der Farbsignale im Tumor wurden pro Tumor diese beiden Regionen getrennt als auch jeweils mit und ohne Farbpixel sowie nur die Farbpixel gespeichert. Bei der folgenden Beurteilung konnten die Volumina aus beliebigen Perspektiven sowie im Rotationsmodus betrachtet werden, um möglichst präzise Informationen über die dargestellten Strukturen zu erhalten.

Die Struktur der Farbsignale sowie der Verlauf möglicher Gefäße wurden anhand eines Beobachtungsscores bewertet (siehe Tabelle 2). Beurteilt wurden Struktur und Intensität der Farbsignale. Bei der Beurteilung der Gefäßdicke wurde 1 Scorepunkt („zartes Gefäß“) vergeben, wenn im Verlauf des Gefäßes im Querschnitt die Farbsignale eine Fläche von durchschnittlich weniger als 1mm^2 entsprechend der Referenzgröße einnahmen. Bei größerem Querschnitt wurden 2 Punkte („kräftiges Gefäß“) vergeben. Weiterhin wurde die Anzahl möglicher Gefäße und deren dreidimensionale Anordnung evaluiert. Waren Gefäße im Tumor vorhanden, wurde deren Verlauf in Relation zum Tumervolumen und das Überschreiten der Tumorgrenze analysiert. Für jeden Beobachtungsaspekt wurden bei Nichtvorhandensein des Merkmals 0 sowie je nach Ausprägung 1-2 Punkte vergeben, wobei die höhere Punktzahl immer für stärkere Vaskularisation vergeben wurde (siehe Tabelle 2).

Tabelle 2: Beobachtungsscore der Gefäßmorphie. Bei jedem Tumor wurden die Farbsignale auf verschiedene Merkmale untersucht. Entsprechend der Ausprägung des Merkmals wurden Scorepunkte vergeben, die pro Tumor addiert wurden.

Anzahl der Punkte	0	1	2
Signale im Tumorzentrum	Keine Signale vorhanden	Diffus	Zusammenhängend (=Gefäß)
Gefäßdicke	Kein Gefäß vorhanden	Zart	Kräftig
Liegen mehrere zusammenhängende Gefäße vor ?	Kein Gefäß vorhanden	Nein	Ja
Gefäßstruktur	Kein Gefäß vorhanden	Astartig	Netzartig
Tumorgefäßverlauf	Kein Gefäß vorhanden	Zentral	Randständig
Überschreiten Gefäße Tumorgrenze?	Kein Gefäß vorhanden	Nein	Ja

Für jeden Tumor wurde ein Beobachtungsscore durch Addition der vergebenen Punkte ermittelt, der Werte von 0 bis 12 annehmen konnte. Beobachtungsscore 0 bedeutet, daß im Tumor keine Farbsignale vorhanden waren. Der Beobachtungsscore wurde anhand eines Bewertungsscores ausgewertet. Ein Beobachtungsscore von 0-3 wurde als benigner Tumor bewertet, ein Score von 9-12 Punkten wurde als maligne eingestuft. Werte von 4-8 galten als nicht eindeutig zuzuordnen, als indifferent (Tabelle 3).

Tabelle 3: Bewertung des Beobachtungsscores der Gefäßmorphie. Ausgehend von der Hypothese, maligne Tumoren seien stärker vaskularisiert als benigne, wurden die Scorewerte gruppiert und als benigne, indifferent und maligne bewertet. Daraufhin wurde untersucht, wie oft die Tumoren ausgehend vom Scorewert richtig eingestuft wurden.

Punktzahl Beobachtungsscore	Bewertung
0-3	Benigne
4-8	Indifferent
9-12	Maligne

3.9 STATISTISCHE AUSWERTUNG

Für die erhobenen Daten der Anflutungsparameter und der Volumenbestimmungen wurden die arithmetischen Mittelwerte, Standardabweichungen, Median, Minimal- und Maximalwert beim intertumoralen Vergleich der Gruppen „benigne Tumoren“ und „maligne Tumoren“ sowie beim intratumoralen Vergleich der Gruppen „Tumor“ und „Tumorumgebung“ bestimmt. Diese Werte wurden ebenfalls für den Beobachtungsscore ermittelt. Die Bewertung des Beobachtungsscores wurde anhand des Chi-Quadrat-Tests nach Pearson durchgeführt. Um die Stärke des Zusammenhangs zwischen zwei Variablen zu ermitteln, wurde in begründeten Fällen die Korrelationsanalyse mit Hilfe des Pearson Korrelationskoeffizienten ermittelt.

Da die Ergebnisse wissenschaftlicher Untersuchungen keinen Beweischarakter besitzen, wurde der Wilcoxon-Test für paarige und unpaarige Stichproben benutzt. Dieser Test, auch als Rangsummentest bezeichnet, ist ein von den Mittelwerten und von der Normalverteilung der Meßwerte unabhängiges Analogon zum t-Test und kann sowohl zum Vergleich zweier unabhängiger Stichproben, als auch zum Vergleich gepaarte Meßwerte bei der selben Versuchseinheit benutzt werden. Er basiert auf einer Rangreihe der absoluten Wertepaare-Differenzen (Bühl und Zöfel, 1994). Das Signifikanzniveau wurde auf $p < 0,05$ festgelegt, d.h. es wird zugelassen, daß die Nullhypothese bei 100 Tests fünfmal fälschlicherweise widerlegt wird.

Die Auswertung der ermittelten Daten erfolgte mit Hilfe des Computerprogramms "SPSS für Windows" Version 10.0 des Rechenzentrums Jena.

4 ERGEBNISSE

4.1 HISTOPATHOLOGISCHE DIAGNOSEN

Die histopathologische Untersuchung der 49 Gewebeproben von 48 Patientinnen ergab bei 27 der Gewebsuntersuchungen einen gutartigen Befund, bei den restlichen 22 Tumoren lagen Malignome vor.

Die 27 benignen Befunde teilen sich auf in 17 Fibroadenome, fünf Fibrosis mammae, zwei intraduktale Papillome sowie ein entzündlich vergrößerter intramammärer Lymphknoten und eine traumatische Läsion. Bei einer Patientin lag eine granulomatöse Mastitis vor. Unter den 22 Malignomen fanden sich 14 invasive duktale Karzinome, drei invasive lobuläre Karzinome, zwei duktale Carcinomata in situ, jeweils ein invasives tubuläres und inflammatorisches Karzinom sowie eine intramammäre Lymphknotenmetastase eines bekannten malignen Melanoms. Bei dieser Patientin wurde kontralateral ein Fibroadenom exstirpiert, bei dem ebenfalls die Volumensegmentation durchgeführt wurde.

4.2 PATIENTINNENKOLLEKTIV

Im untersuchten Kollektiv waren Frauen mit einem gutartigen Mammatumor durchschnittlich 42,4 (15,1) Jahre alt. Mit einem mittleren Alter von 56,6 (11,6) Jahren waren Patientinnen, bei denen die histopathologische Untersuchung die Diagnose eines Malignoms erbrachte, signifikant älter ($p \leq 0,05$). Diese Frauen waren 35-80 Jahre alt (Tabelle 4). Alle Patientinnen haben die Gabe von Levovist® gut toleriert. Es traten keine Nebenwirkungen auf.

Tabelle 4: Altersverteilung der 49 Patientinnen

	Benigne Tumoren (n=27)	Maligne Tumoren (n=22)
Mittleres Alter (Jahre)	42,4 (15,1)	56,6 (11,6)
Minimum (Jahre)	16	35
Maximum (Jahre)	69	80

4.3 GEWERTETE TUMOREN

Bei einer Patientin befand sich ein Fibroadenom kontralateral der Metastase eines malignen Melanoms. Die Anflutungsparameter des Fibroadenoms wurden nicht bestimmt, da zur Konstanthaltung der Werte der Anflutung jeweils die erste systemische Gabe von Levovist[®] verwendet wurde.

Somit konnten die Daten der Anflutung von 26 benignen und 22 malignen Veränderungen ausgewertet werden.

In die Auswertung der dreidimensionalen Daten wurden vier Tumoren, darunter zwei invasive duktile Karzinome, eine traumatische Läsion sowie der Befund einer granulomatösen Mastitis aufgrund technischer Insuffizienz der Aufnahmen nicht einbezogen.

Folglich konnte bei 25 benignen und 20 malignen Tumoren eine 3D-Analyse des Farbvolumenanteils sowie der Gefäßmorphologie durchgeführt werden.

4.4 ERGEBNISSE DER PARAMETER DER ANFLUTUNG (2D)

Den Ergebnissen der Auswertung der Anflutungsparameter vorangestellt sind Abbildungen der zweidimensionalen Datensätze der Anflutung bei einem invasiven duktalem Karzinom zu verschiedenen Zeitpunkten nach Gabe von Levovist[®] (Abbildungen 7 A-D). Der zeitliche Verlauf des MCV und der CPD bei diesem Tumor ist in den Abbildungen 8 und 9 zu verfolgen.

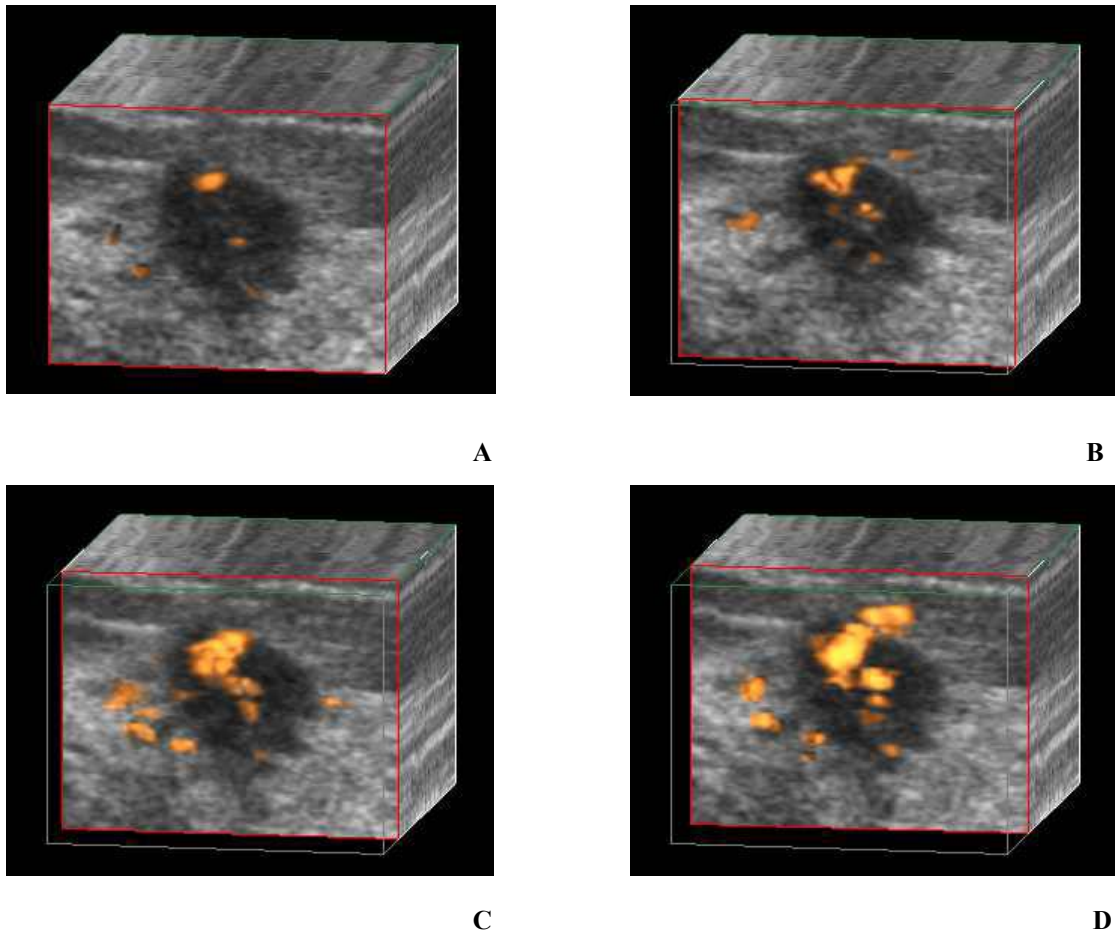


Abbildung 7: Verschiedene Stadien der Anflutung von Levovist® bei einem invasiv duktalem Karzinom (Vergleiche Abbildungen 8 und 9). **A:** untersuchte Tumorebene zum Zeitpunkt $t=0$ (Bolusgabe). **B:** 24s, **C:** 30s, **D:** 35,5s nach Bolusgabe (Maximum der Anflutung).

4.4.1 ERGEBNISSE DER AUSWERTUNG DES MEAN COLOR VALUE MCV (2D)

Abbildung 8 zeigt den zeitlichen Verlauf des MCV im Tumorzentrum sowie der Peripherie bei einem invasiven duktalem Karzinom nach Gabe von Levovist® (Vergleiche Abbildungen 7A-D). Die Steigung der Geraden ist im Zentrum ($1,4 \text{ cm/s}^2$) größer als in der Peripherie des Tumors ($0,87 \text{ cm/s}^2$). Anstiegszeit $t(m)$ sowie Anflutungszeit T sind in Zentrum und Peripherie jeweils annähernd gleich ($t(m)_{\text{Zentrum}} = 17,6 \text{ s}$, $t(m)_{\text{Peripherie}} = 15,1 \text{ s}$, $T_{\text{Zentrum}} = 35,5 \text{ s}$, $T_{\text{Peripherie}} = 34,9 \text{ s}$).

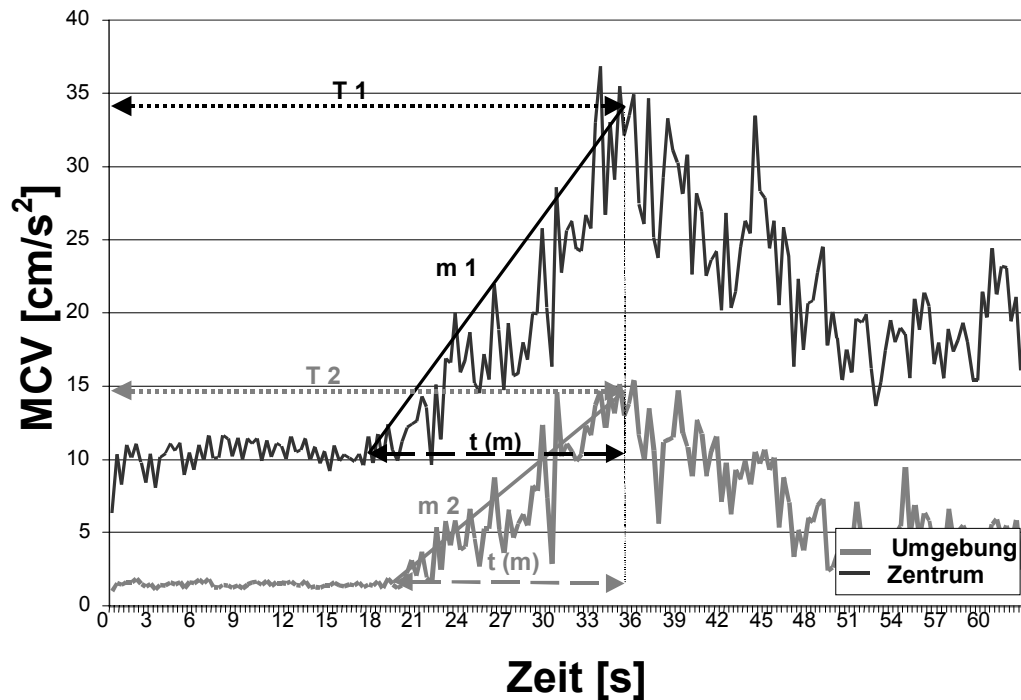


Abbildung 8: Verlauf des Mean Color Value (MCV) im Tumor sowie der Peripherie des invasiv duktalen Karzinoms aus Abbildung 7. Die untersuchten Parameter T, t(m) und m wurden jeweils markiert.

4.4.1.1 VERGLEICH BENIGNE VERSUS MALIGNEN, TUMORZENTRUM, 2D

Innerhalb der Gruppen benigne und maligne wurden die arithmetischen Mittelwerte sowie die Standardabweichungen für alle gemessenen Anflutungsparameter im Tumor berechnet. Die Mittelwerte wurden mit Hilfe des Wilcoxon-Tests für ungepaarte Stichproben verglichen (Tabelle 5).

Tabelle 5: Auswertung der Parameter des MCV bei 26 benignen und 22 malignen Tumoren gemessen im Tumorzentrum

Parameter	Benigne Tumoren [X (SD)]	Maligne Tumoren [X (SD)]	Asymptotisches Signifikanzniveau (p)
Steigung m [cm/s ²]	1,3 (1,5)	2,1 (6)	0,83, nicht signifikant
Anstiegszeit t(m) [s]	5,5 (5,6)	9,1 (7,7)	0,07, nicht signifikant
Anflutungszeit T [s]	18,6 (15,7)	23,4 (14,8)	0,27, nicht signifikant

Der Vergleich der Mittelwerte der Anflutungsparameter innerhalb der Dignitätsgruppen benigne und maligne im Tumorzentrum zeigt, daß in der Gruppe der malignen Tumore durchschnittlich die Steigung m der Anstiegsgeraden steiler ($2,1 \text{ cm/s}^2$ (SD 6)) als bei den benignen Tumoren ($1,3 \text{ cm/s}^2$ (SD 1,5)) ist. Die Zeiträume bis zur maximalen Anflutung (T) ($23,4 \text{ s}$ bei malignen versus $18,6 \text{ s}$ bei benignen Tumoren) als auch die Anstiegszeit $t(m)$ sind nicht statistisch signifikant verschieden ($9,1 \text{ s}$ versus $5,5 \text{ s}$). Die Werte der Steigung m überlappen sich stark ($p=0,83$). Vor allem in der Gruppe der malignen Tumore liegt bei der Steigung m eine sehr hohe Standardabweichung vor ($m=2,1 \text{ cm/s}^2$ (SD 6)) (Tabelle 5).

In Abbildung 10 idealisierte Mittelwertkurven aller benignen und malignen Tumoren dargestellt. Deutlich erkennbar dort die durchschnittlich längeren Zeiträume $t(m)$ und T bei den Malignomen.

Tabelle 6: Deskriptive Statistik der im Zentrum gemessenen Parameter des MCV der benignen Tumoren (n=26)

	Steigung $m \text{ [cm/s}^2\text{]}$	Anstiegszeit $t(m) \text{ [s]}$	Anflutungszeit $T \text{ [s]}$
Mittelwert (SD)	1,3 (1,5)	5,5 (5,6)	18,6 (15,7)
Median	0,6	3,2	19,7
Minimum	0,0	0,0	0,0
Häufigkeit des Minimums	8	8	8
Maximum	5,0	16,6	49,9

Die hohen Standardabweichungen der Mittelwerte (Tabelle 5) sind unter anderem dadurch zu erklären, daß bei acht der benignen Tumoren im Tumorzentrum und in der Peripherie keine Anflutungsparameter ermittelt werden konnten. Trotz Vorhandensein von Farbsignalen im Tumor war keine Anflutungskurve darstellbar. Die Anstiegszeit dauerte je nach benignem Tumor von 0 s bis $16,6 \text{ s}$. Bei der Hälfte dieser Tumoren liegt diese Zeit jedoch unter $3,2 \text{ s}$. Der sehr niedere Median ist durch die acht Tumoren, die keine Anflutung aufweisen, erklärbar. Die anderen Werte sind kontinuierlich gestaffelt,

es liegen keine Ausreißer vor. Ebenso weit gestreut sind die Werte der Dauer der Anflutungszeit, die bei einem Median von 19,7 s von 0 s bis 49,9 s reichen (Tabelle 6).

Tabelle 7: Deskriptive Statistik der im Zentrum gemessenen Parameter des MCV der malignen Tumoren (n=22)

	Steigung m [cm/s ²]	Anstiegszeit t(m) [s]	Anflutungszeit T [s]
Mittelwert (SD)	2,1 (6)	9,1 (7,7)	23,4 (14,8)
Median	0,6	8,2	23,1
Minimum	0,0	0,0	0,0
Häufigkeit des Minimums	4	4	4
Maximum	28,6	28,2	44,4

Gleichermaßen weit gestreut liegen die Werte, die durchschnittlich im Zentrum der Malignome ermittelt wurden. Hier konnte bei 4 Tumoren keine Anflutungskurve dargestellt werden. Bei der Hälfte der Tumoren liegt die Steigung m unter $0,6 \text{ cm/s}^2$. Der Maximalwert der Steigung beträgt $28,6 \text{ cm/s}^2$. Dieser Wert liegt in sehr großem Abstand zu den anderen gemessenen Werten. 95,5% der malignen Tumoren haben eine Steigung $m \leq 3,45 \text{ cm/s}^2$. Die histologische Untersuchung dieses Ausreißers erbrachte die Diagnose eines DCIS. Der Mittelwert der Steigung m der malignen Tumoren ohne diesen Ausreißer liegt mit $0,8 \text{ cm/s}^2$ (SD 0,9) unterhalb des Wertes der gutartigen Tumoren ($1,3 \text{ cm/s}^2$ (SD 1,5)). Die Anstiegszeit dauerte bis zu 28,2 s bei einem Median von 8,2 s. Die Werte sind hier wie bei den benignen Tumoren gleichmäßig gestaffelt. Der Maximalwert der Anflutungszeit T beträgt 44,4 s, bei der Hälfte der Tumoren dauert $t(m)$ kürzer als 23,1 s (Tabelle 7).

4.4.1.2 VERGLEICH BENIGNE VERSUS MALIGN, TUMORUMGEBUNG, 2D

Tabelle 8: Auswertung der Parameter des MCV gemessen in der Tumorumgebung bei 26 benignen und 22 malignen Tumoren

Parameter	Benigne Tumoren [X (SD)]	Maligne Tumoren [X (SD)]	Asymptotisches Signifikanzniveau (p)
Steigung m [cm/s ²]	1,0 (1,8)	2,1 (5,5)	0,11, nicht signifikant
Anstiegszeit t(m) [s]	7,7 (7,3)	8,2 (6,2)	0,35, nicht signifikant
Anflutungszeit T [s]	19,3 (16,2)	23,4 (14,6)	0,31, nicht signifikant

Auch beim Vergleich der Mittelwerte der Parameter in der Tumorumgebung liegen keine signifikanten Unterschiede vor. Die mittlere Steigung der benignen Tumoren (1,0 cm/s² (SD 1,8)) in der Tumorperipherie unterscheidet sich von der Steigung der Malignome (2,1 cm/s² (SD 5,5)) nicht signifikant. Wie beim Vergleich der Werte des Zentrums der Tumoren dauern hier die Anstiegszeit t(m) und die Anflutungszeit T im Mittel bei den malignen Tumoren statistisch nicht signifikant länger als bei den benignen. Auch hier liegen sehr hohe Standardabweichungen vor (Tabelle 8).

Tabelle 9: Deskriptive Statistik der in der Tumorumgebung gemessenen Anflutungsparameter der benignen Tumoren (n=26)

	Steigung m [cm/s ²]	Anstiegszeit t(m) [s]	Anflutungszeit T [s]
Mittelwert (SD)	1,0 (1,8)	7,7 (7,4)	19,3 (16,2)
Median	0,2	7,0	20,3
Minimum	0,0	0,0	0,0
Häufigkeit des Minimums	8	8	8
Maximum	7,4	25,6	49,9

Wie im Tumorzentrum konnte bei 8 der benignen Tumoren auch in der Umgebung des Tumors keine Anflutung festgestellt werden. Daher liegen bei allen Parametern große Streubreiten vor. Die maximale Dauer der Anflutungszeit ist in dieser Gruppe mit 49,9 s sehr lang (Tabelle 9).

Tabelle 10: Deskriptive Statistik der in der Tumorumgebung gemessenen Anflutungsparameter der malignen Tumoren (n=22)

	Steigung m [cm/s ²]	Anstiegszeit t(m) [s]	Anflutungszeit T [s]
Mittelwert (SD)	2,1 (5,5)	8,2 (6,2)	23,4 (14,6)
Median	1,1	7,9	23,9
Minimum	0,0	0,0	0,0
Häufigkeit des Minimums	4	4	4
Maximum	26,5	21,24	45,6

Analog zu den Messungen im Zentrum der benignen Tumoren sind auch bei 4 Tumoren in deren Umgebung keine Anflutungskurven nachweisbar. Hier weisen 95,5% der malignen Tumoren eine Steigung $m \leq 3,45 \text{ cm/s}^2$ auf. Der Maximalwert des histologisch diagnostizierten DCIS liegt mit $26,5 \text{ cm/s}^2$ in großem Abstand hierzu (Tabelle10).

4.4.1.3 VERGLEICH TUMORZENTRUM VERSUS TUMORUMGEBUNG, 2D

Bei den Tumoren wurde weiterhin untersucht, ob jeweils statistisch signifikante Unterschiede der Parameter der Anflutung zwischen Tumorzentrum und Tumorumgebung vorliegen. Bei diesem intrakollektiven Vergleich wurde die statistische Auswertung anhand des Wilcoxon-Tests für gepaarte Stichproben durchgeführt.

Tabelle 11: Vergleich der Anflutungsparameter Tumor versus Umgebung bei benignen Tumoren (n=26)

Parameter	Tumor [X (SD)]	Tumorumgebung [X (SD)]	Asymptotisches Signifikanzniveau (p)
Steigung m [cm/s²]	1,3 (1,5)	1,0 (1,8)	0,19, nicht signifikant
Anstiegszeit t(m) [s]	5,5 (5,6)	7,7 (7,3)	0,04 *
Anflutungszeit T [s]	18,6 (15,7)	19,3 (16,2)	0,1, nicht signifikant

(* signifikanter Unterschied)

Die Steigung **m** ist bei den benignen Tumoren im Zentrum nicht signifikant anders als in der Peripherie ($p=0,19$). In der Tumorumgebung dauert die Zeit des Anstiegs **t(m)** (7,7 s (SD 7,3) versus 5,5 s (SD 5,6)) länger. Der Unterschied zum Tumorzentrum ist signifikant ($p=0,04$) (Tabelle 11).

Tabelle 12: Vergleich der Anflutungsparameter Tumor versus Tumorumgebung bei malignen Tumoren (n=22)

Parameter	Tumor [X (SD)]	Tumorumgebung [X (SD)]	Asymptotisches Signifikanzniveau (p)
Steigung m [cm/s²]	2,1 (6)	2,1 (5,5)	0,72, nicht signifikant
Anstiegszeit t(m) [s]	9,1 (7,7)	8,2 (6,2)	0,39, nicht signifikant
Anflutungszeit T [s]	23,4 (14,8)	23,4 (14,6)	0,98, nicht signifikant

Demgegenüber stehen die Werte der malignen Tumoren, bei denen sich die Parameter der Anflutung im Tumor kaum von den in der Umgebung gemessenen unterscheiden. Bei der Anflutungszeit **T** sind die Werte fast identisch ($p=0,98$) (Tabelle 12). Der Vergleich der Mittelwerte der einzelnen Parameter im Tumor und der Umgebung zeigt, daß sich diese Werte bei benignen Tumoren mehr unterscheiden als bei den Malignomen.

4.4.2 ERGEBNISSE DER AUSWERTUNG DER COLOR PIXEL DENSITY CPD, 2D

Den Ergebnissen vorangestellt ist die Darstellung der Zunahme der CPD im Tumorzentrum sowie der Umgebung des Tumors des selben invasiven duktales Karzinoms, dessen Verlauf des MCV in Abbildung 8 dargestellt ist.

Aus der CPD_{prae} von 5,4% und CPD_{post} von 17,2% ergibt sich eine Zunahme der CPD im Zentrum um 11,8% (Z1). Bei diesem Karzinom ist die Farbpixeldichte im Zentrum des Tumors größer als in der Peripherie. Dort liegt die Zunahme Z2 bei 7,6% (Abbildung 9).

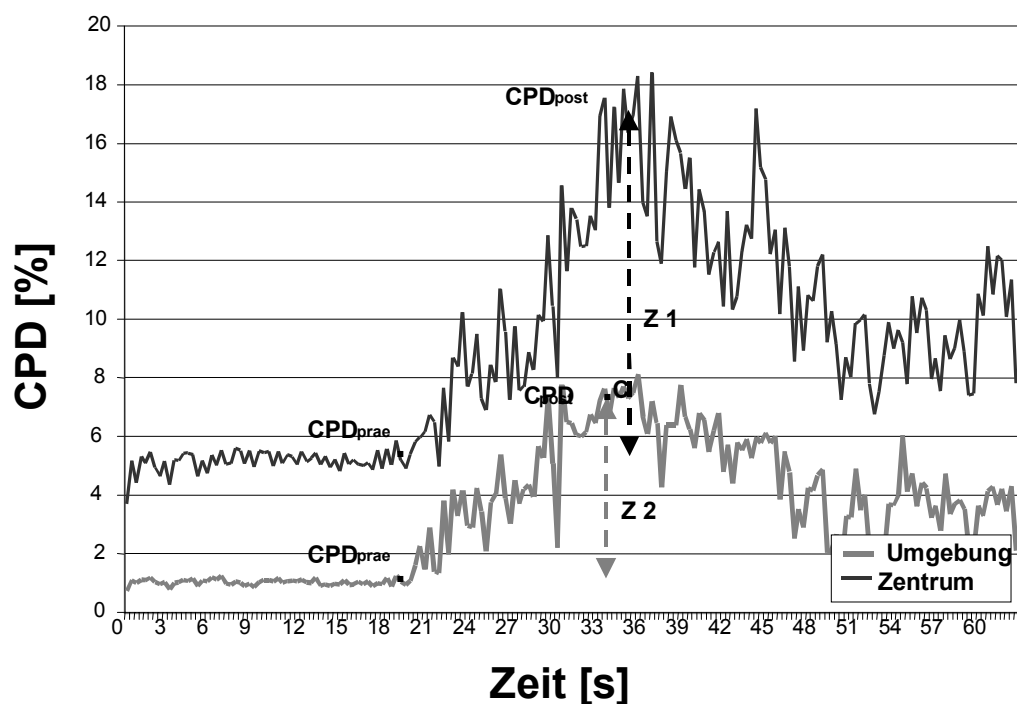


Abbildung 9: Verlauf der Color Pixel Density (CPD) im Tumor sowie der Peripherie des invasiven duktales Karzinoms aus Abbildung 7. Die ermittelten Parameter wurden eingezeichnet.

4.4.2.1 VERGLEICH BENIGNE VERSUS MALIGNE, TUMORZENTRUM, 2D

Tabelle 13: Auswertung der CPD im Tumorzentrum bei 26 benignen und 22 malignen Tumoren

Parameter	Benigne Tumoren [X(SD)]	Maligne Tumoren [X(SD)]	Asymptotisches Signifikanzniveau (p)
CPD _{prae} [%]	0,73 (1,55)	1,12 (2,09)	0,43, nicht signifikant
CPD _{post} [%]	4,74 (6,85)	6,21 (7,49)	0,27, nicht signifikant
Zunahme Z [%]	4,0 (6,34)	5,09 (5,88)	0,23, nicht signifikant

Bei den malignen Tumoren ist der Anteil der Farbpixel im Tumor vor der Anflutung höher als bei den benignen. Im Mittel ist die Zunahme des Farbanteils der Malignome größer, so daß auch am Höchstpunkt der Anflutung des Echosignalverstärkers die Farbpixeldichte bei den bösartigen Tumoren durchschnittlich größer ist. Bei allen untersuchten Parametern liegen jedoch keine statistisch signifikanten Unterschiede vor (Tabelle 13, siehe auch Abbildung 10).

Tabelle 14: Deskriptive Statistik der im Zentrum gemessenen Parameter der CPD der benignen Tumoren (n=26)

	CPD _{prae} [%]	CPD _{post} [%]	Zunahme Z [%]
Mittelwert (SD)	0,73 (1,55)	4,74 (6,85)	4,0 (6,34)
Median	0,04	1,08	0,57
Minimum	0,0	0,0	0,0
Häufigkeit des Minimums	12	8	8
Maximum	7,0	27,0	26,6

12 der 25 benignen Tumoren weisen zu Beginn der Anflutung keine Farbpixel im Tumor auf, bei insgesamt 8 benignen Tumoren konnte auch im weiteren Verlauf keine Anflutung festgestellt werden. Dies bedeutet, daß nach Gabe von Levovist® der Anteil

der durchbluteten benignen Tumoren von 53% auf 70% anstieg. Bei fünf Tumoren werden am Höchstpunkt der Anflutung über 10% der Fläche und bei einem Tumor 27% der Fläche von Farbpixeln eingenommen. Durch diese große Spannweite der Werte erklären sich die hohen Standardabweichungen. Eine Zunahme Z der Farbpixeldichte um bis zu 26,6% wurde bei den gutartigen Tumoren beobachtet (Tabelle 14).

Tabelle 15: Deskriptive Statistik der im Tumor gemessenen Parameter der CPD der malignen Tumoren (n=22)

	CPD _{prae} [%]	CPD _{post} [%]	Zunahme Z [%]
Mittelwert (SD)	1,12 (2,09)	6,21 (7,49)	5,09 (5,88)
Median	0,38	4,5	3,7
Minimum	0,0	0,0	0,0
Häufigkeit des Minimums	9	4	4
Maximum	9,0	28,0	19,0

Bei den malignen Tumoren weisen zu Beginn der Anflutung 9 Tumoren keine Farbsignale auf, bei 5 dieser Tumoren reichert sich jedoch Kontrastmittel im weiteren zeitlichen Verlauf an. Somit nimmt der Anteil der vaskularisierten malignen Tumoren von 60% auf 82% nach Gabe von Levovist® zu. Die maximale Zunahme Z (19,0%) ist nicht signifikant niedriger als die der gutartigen Tumoren (26,6%), jedoch sind bei einem malignen Tumor am Höchstpunkt der Anflutung 28% der Tumorfläche von Farbpixeln bedeckt (Tabelle 15).

Die nachfolgende Abbildung 10 zeigt eine gemittelte „ideale“ Kurve des Verlaufs der Anflutung der 26 benignen und 22 malignen Tumoren. Deutlich erkennbar der Trend zur durchschnittlich längeren und stärkeren (intensiveren) Anflutung bei den Malignomen. Die Anflutungszeit T ist bei den malignen Tumoren größer ($T = 23,4$ s (SD 14,8) versus $T = 18,6$ s (SD 15,7) bei benignen Tumoren). Die durchschnittliche Zunahme Z der Farbpixeldichte ist ebenfalls bei den Malignomen höher.

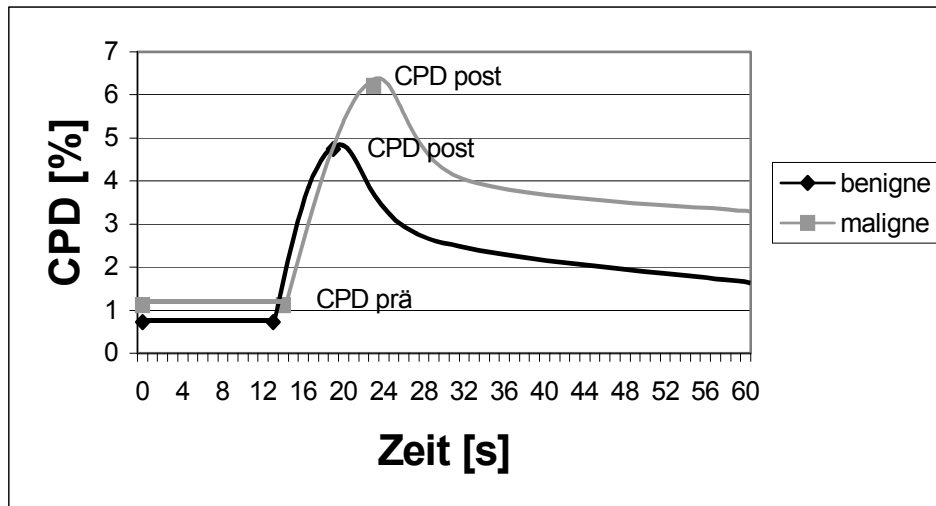


Abbildung 10: Gemittelter „idealer“ quantitativer Kurvenverlauf der Anflutung von Levovist® bei 26 benignen und 22 malignen Tumoren. Die Zunahme Z der CPD ist bei Malignomen größer, ebenso die Zeiträume T und $t(m)$. Bei keinem dieser Werte liegen jedoch signifikante Unterschiede vor. Die Spannbreite der Werte ist jeweils sehr groß (vgl. Tabellen 5-7 und 13-15). Dem wird bei der Darstellung dieser idealen Kurve nicht Rechnung getragen.

4.4.2.2 VERGLEICH BENIGNE VERSUS MALIGNE, TUMORUMGEBUNG, 2D

Tabelle 16: Auswertung der CPD in der Tumorumgebung bei 26 benignen und 22 malignen Tumoren

Parameter	Benigne Tumoren [X(SD)]	Maligne Tumoren [X(SD)]	Asymptotisches Signifikanzniveau (p)
CPD _{prä} [%]	0,80 (1,48)	0,74 (1,11)	0,42, nicht signifikant
CPD _{post} [%]	4,44 (5,76)	6,83 (7,16)	0,16, nicht signifikant
Zunahme Z [%]	3,63 (5,05)	6,09 (6,67)	0,10, nicht signifikant

Der Vergleich der CPD in der Umgebung zeigt ebenfalls keinen signifikanten Unterschied zwischen den Dignitätsgruppen. Die Werte der malignen Tumoren liegen höher, das heißt, die Zunahme des Farbanteils ist in Malignomen durchschnittlich höher als bei den gutartigen Veränderungen (Tabelle 16).

Tabelle 17: Deskriptive Statistik der in der Umgebung des Tumors gemessenen Parameter der CPD der benignen Tumoren (n=26)

	CPD _{prae} [%]	CPD _{post} [%]	Zunahme Z [%]
Mittelwert (SD)	0,80 (1,48)	4,44 (5,76)	3,63 (5,05)
Median	0,06	1,8	1,45
Minimum	0,0	0,0	0,0
Häufigkeit des Minimums	10	8	8
Maximum	5,7	21,4	20,20

In der Tumorumgebung weisen vor Bolusgabe 10 der benignen Tumoren keine Farbpixel auf, bei 2 dieser Tumoren findet im späteren zeitlichen Verlauf eine Anflutung statt (Tabelle 17).

Tabelle 18: Deskriptive Statistik der in der Umgebung des Tumors gemessenen Parameter der CPD der malignen Tumoren (n=22)

	CPD _{prae} [%]	CPD _{post} [%]	Zunahme Z [%]
Mittelwert (SD)	0,74 (1,11)	6,83 (7,16)	6,09 (6,67)
Median	0,74	4,65	3,9
Minimum	0,0	0,0	0,0
Häufigkeit des Minimums	7	4	4
Maximum	5,1	27,5	26,5

In der Umgebung der Malignome war zu Beginn der Messung bei 7 Tumoren kein Farbanteil in der ROI zu erkennen, bei 3 dieser Tumoren reicherte sich jedoch Kontrastmittel an. Auch beim Vergleich der Parameter in der Umgebung der malignen Tumoren findet man hohe Standardabweichungen. (Tabelle 18).

4.4.2.3 VERGLEICH TUMORZENTRUM VERSUS TUMORUMGEBUNG

Tabelle 19: Intratumoraler Vergleich Tumor versus Tumorumgebung der benignen Tumoren (n=26)

Parameter	Tumor [X(SD)]	Tumorumgebung [X(SD)]	Asymptotisches Signifikanzniveau (p)
CPD _{prae} [%]	0,73 (1,55)	0,80 (1,48)	0,68, nicht signifikant
CPD _{post} [%]	4,74 (6,85)	4,44 (5,76)	0,54, nicht signifikant
Zunahme Z [%]	4,0 (6,34)	3,63 (5,05)	0,52, nicht signifikant

Bei den benignen Tumoren zeigen 12 Tumoren zu Beginn der Anflutung keine Signale im Zentrum, 4 der Tumoren weisen jedoch Vaskularisation im späteren Verlauf auf. In der Umgebung findet man initial bei 10 Tumoren keine Farbsignale, davon zeigen wie im Zentrum im weiteren Verlauf acht Tumoren keine Anflutung (Tabellen 14 und 17). Beim Vergleich der Mittelwerte der ermittelten Werte der Farbpixeldichte zwischen Tumor und Umgebung findet man bei den benignen Tumoren keinen signifikanten Unterschied, die Parameter sind bei p-Werten $\geq 0,52$ ähnlich verteilt (Tabelle 19).

Tabelle 20: Intratumoraler Vergleich Tumor versus Tumorumgebung der malignen Tumoren (n=22)

Parameter	Tumor [X(SD)]	Tumorumgebung [X(SD)]	Asymptotisches Signifikanzniveau (p)
CPD _{prae} [%]	1,12 (2,09)	0,74 (1,11)	0,64, nicht signifikant
CPD _{post} [%]	6,21 (7,49)	6,83 (7,16)	0,87, nicht signifikant
Zunahme Z [%]	5,09 (5,88)	6,09 (6,67)	0,74, nicht signifikant

Im Tumorzentrum ist die Dichte der Farbpixel zu Beginn der Datenakquisition etwas größer (1,12% (2,09) im Tumorzentrum versus 0,74% (1,11) in der Umgebung (p=0,64)). Die Dichte der Farbpixel ist zum Höchstpunkt der Anflutung innerhalb der

beiden Regionen nahezu identisch ($p=0,87$). Die Zunahme Z ist in der Umgebung des Tumors etwas größer als im Zentrum ($p=0,74$) (Tabelle 20).

4.4.3 VERGLEICH DER QUANTITATIVEN UND QUALITATIVEN PARAMETER DER ANFLUTUNGSKURVEN (CPD UND MCV, 2D)

Im untersuchten Patientinnengut wurde sowohl eine Zunahme des quantitativen Parameters der Anflutung, der Color Pixel Density (CPD), als auch des qualitativen Wertes, des Mean Color Value (MCV) beobachtet. Die Maximalwerte der beiden Anflutungskurven eines Tumors korrelieren nach dem Pearson Korrelationskoeffizienten ($k=0,91$) für bivariate Korrelationsanalysen auf dem 0,05-Niveau signifikant. Abbildung 11 zeigt den linearen Zusammenhang der beiden Parameter. Außer dem Wert eines Malignoms liegen einzelne Maximalwerte des Mean Color Value oberhalb einer imaginären Korrelationsgeraden (siehe hierzu Diskussion Seite 64).

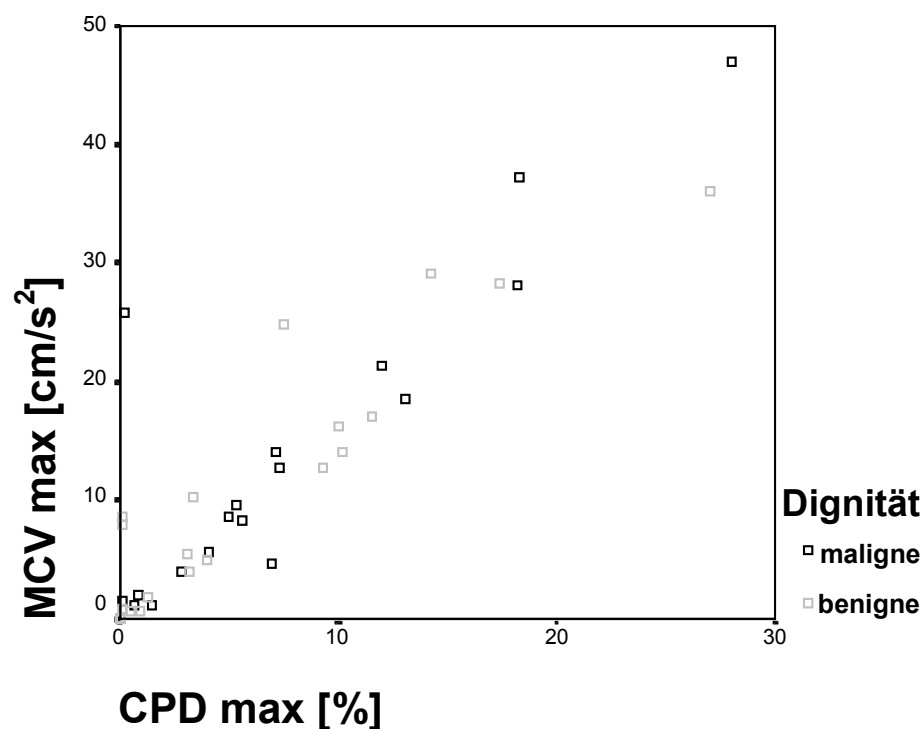


Abbildung 11: Korrelation der Maximalwerte der quantitativen (CPD) und qualitativen (MCV) Anflutungskurven. Der Maximalwert der CPD korreliert nach dem Pearson Korrelationskoeffizienten ($k=0,91$) mit dem Maximalwert des MCV.

4.5 VOLUMENBESTIMMUNG (3D)

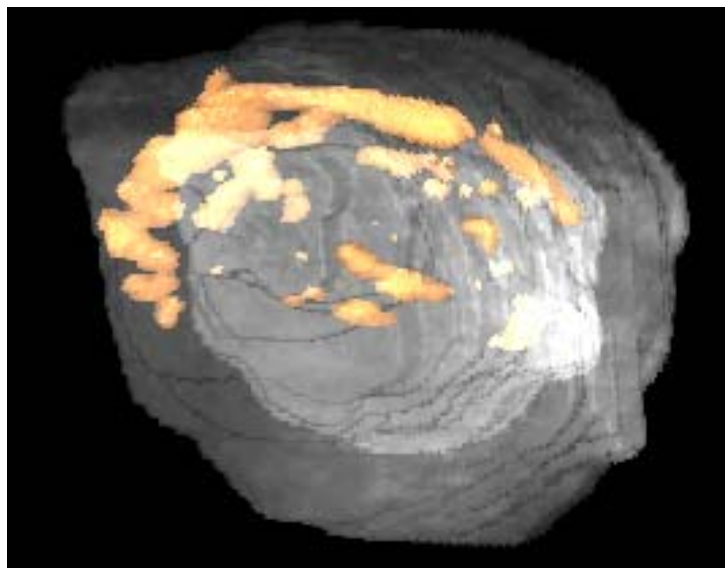
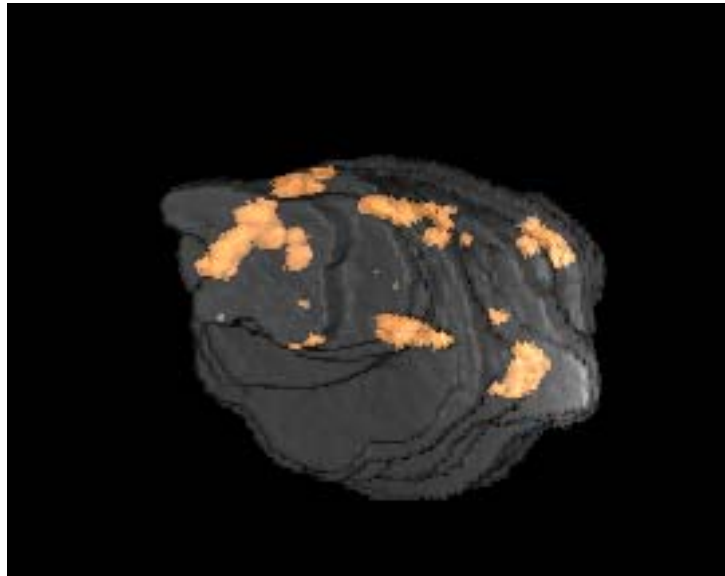


Abbildung 12: Segmentiertes Tumolvolumen eines Fibroadenoms, Darstellung mit Gefäßen. Analog zur abstrahierten Darstellung der Segmentation in Abbildung 6 kann man die Annäherung an das Tumolvolumen durch Aneinanderreihung von Zylinderscheiben erkennen.

Oben: Tumorzentrum, **Unten:** Tumorzentrum und –umgebung, deutlich sichtbar die verstärkte Vaskularisation in der Umgebung des Fibroadenoms.

Die beiden Abbildungen 12 stellen am Beispiel eines Fibroadenoms das Resultat der Volumensegmentation dar. Analog zur abstrahierten Darstellung in Abbildung 6 wurde das sonographisch darstellbare Volumen genähert.

Wie oben beschrieben, wurden die dreidimensionalen Daten von 25 benignen und 20 malignen Tumoren ausgewertet. Das durchschnittliche Volumen aller untersuchten Tumoren liegt bei 2,7 ml. Die malignen Tumoren sind dabei etwas größer (3,7 ml) als die benignen (1,9 ml).

Tabelle 21: Farbvolumenanteile im Vergleich bei 25 benignen und 20 malignen Tumoren

	Benigne Tumoren	Maligne Tumoren	Asymptotisches Signifikanzniveau (p)
Mittelwert (%) [X(SD)]	2,94 (3,33)	2,71 (3,94)	0,75
Median (%)	1,59	1,58	
Minimum (%)	0,0	0,01	
Häufigkeit des Minimums	2	1	
Maximum (%)	12,7	16,1	

Der Anteil der Farbvoxel am Tumolvolumen unterscheidet sich zwischen den Dignitätsgruppen nicht. Der Farbanteil ist bei den benignen Tumoren etwas höher. Nur zwei der 25 benignen Tumoren weisen kein Farbsignal im Tumolvolumen auf. Bei allen anderen Tumoren konnten Farbsignale nachgewiesen werden. Bei der Hälfte der Tumoren der einzelnen Dignitätsgruppen liegen die Farbvolumenanteile unter 1,59% (benigne Tumoren) bzw. 1,58% (Malignome). Die hohen Werte der

Standardabweichungen sind durch die sehr hohen Maximalwerte der Farbvolumenanteile zu erklären (Tabelle 21).

4.6 VERGLEICH DER FARBDICHTE DER 2D-/3D-MESSUNGEN

Der intratumorale Vergleich der Farbdichte im zweidimensionalen (CPD) und dreidimensionalen Bild (CVD) erbrachte, daß bei einem Großteil der Tumoren der prozentuale Farbanteil der zweidimensionalen größer als der der dreidimensionalen Aufnahmen ist. Das Streudiagramm der Korrelation von CPD und CVD zeigt weiterhin, daß pro Tumor kein linearer Zusammenhang zwischen den beiden gemessenen Parametern besteht. Man erkennt, daß die acht benignen und vier malignen Tumore, bei denen keine Anflutung in der gewählten zweidimensionalen Schnittebene ermittelt werden konnte, bis auf einen benignen Tumor im dreidimensionalen Bild Zeichen der Vaskularisation aufwiesen (Abbildung 13). Eine bivariate Korrelationsanalyse anhand des Pearson Korrelationskoeffizienten erbrachte keine signifikante Korrelation ($k=0,11$).

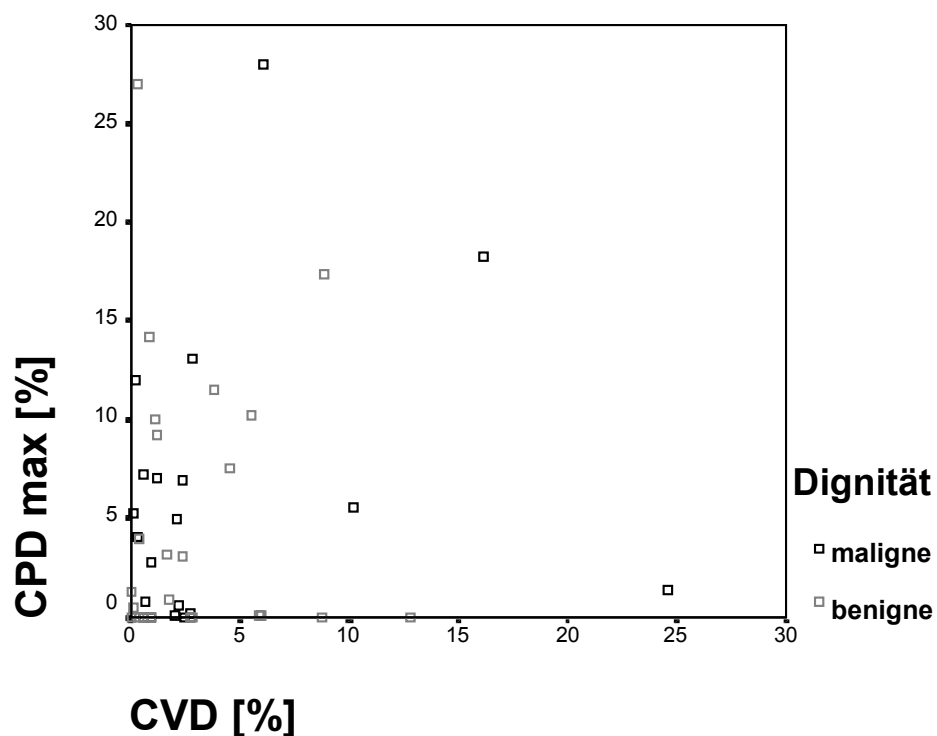


Abbildung 13: Korrelation der zwei- und dreidimensional ermittelten Gefäßdichte. Es besteht kein linearer Zusammenhang zwischen der Dichte der Vaskularisation in der zweidimensional untersuchten Tumorebene (CPD max) und der Gesamtvaskularisation der Tumoren (CVD) ($k=0,11$).

4.7 BEURTEILUNG DER 3D-GEFÄßMORPHOLOGIE

Die Mittelwerte der Gesamtscores der Gefäßmorphologie wurden innerhalb der beiden Dignitätsgruppen ermittelt und anhand des Wilcoxon-Tests für ungepaarte Stichproben verglichen.

Tabelle 22: Vergleich der Punktzahlen des Beobachtungsscores der Gefäßmorphologie bei 25 benignen und 20 malignen Tumoren

	Benigne Tumoren	Maligne Tumoren	Asymptotisches Signifikanzniveau (p)
Mittelwert [X(SD)]	6,04 (3,61)	5,95 (3,35)	0,85
Median	7,00	5,00	
Minimum	0	0	
Häufigkeit des Minimums	4	1	
Maximum	12	11	

Der Vergleich der Scorepunktzahlen zeigt, daß anhand des Gesamtscores keine Trennung zwischen gut- und bösartigen Tumoren erreicht werden kann. Der mittlere Wert des Beobachtungsscores ist bei den benignen und malignen Tumoren fast identisch ($p=0,85$ (Tabelle 22)). In der Gruppe der gutartigen Tumoren liegt der Median bei 7 und ist damit höher als der entsprechende Wert der Malignome. Es liegen 4 benigne Tumoren vor, bei denen visuell keine Farbsignale gefunden wurden, der Maximalscore von 12 Punkten wurde ebenfalls bei einem gutartigen Tumor ermittelt (Abbildung 14). In Abbildung 15 kann man erkennen, daß auch bei den Malignomen die Werte der Gesamtscores Breit gestreut sind. Der Maximalscore von 12 wird von keinem Malignom erreicht.

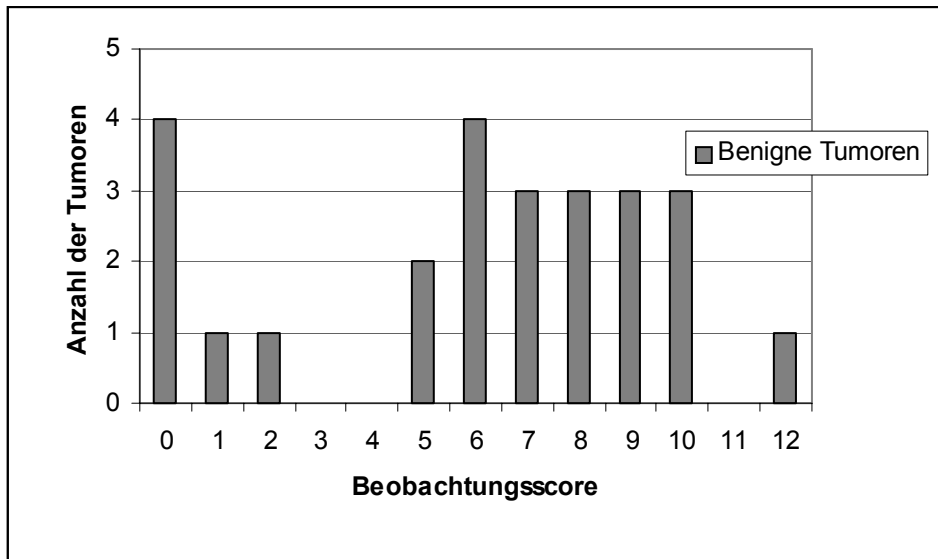


Abbildung 14: Verteilung des Beobachtungsscores der Gefäßmorphologie, 25 benigne Tumoren. Bei 4 benignen Tumoren wurden keine Farbsignale gefunden. Der Maximalscore von 12 bei einem benignen Tumor.

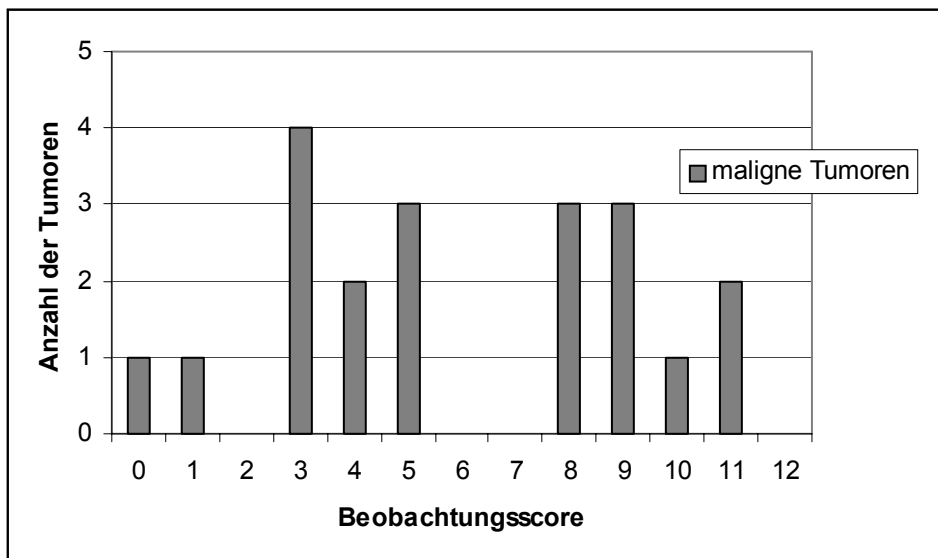


Abbildung 15: Verteilung des Beobachtungsscores der Gefäßmorphologie, 20 maligne Tumoren. Die Scorewerte sind breit gestreut.

Ausgehend von der Hypothese, Malignome seien aufgrund der Neoangiogenese besser vaskularisiert als benigne Tumoren, wurden niedere Scorepunkte (0-3 Punkte) als gutartig, hohe Punktwerte (9-12 Punkte) als maligne bewertet (siehe Tabelle 3).

Anhand dieser Einteilung kann jedoch keine Zuordnung bei gegebenem Vaskularisationsmuster zu einer der beiden Dignitätsgruppen vorgenommen werden. Nur 6 der 25 benignen Tumore weisen das Vaskularisationsmuster auf, von dem erwartet wurde, es sei für diese Entität typisch. Sieben benigne Tumoren (etwa 30%) würden anhand ihres Vaskularisationsmusters fälschlicherweise als maligne beurteilt werden. Etwa die Hälfte der gutartigen Tumoren weist den indifferenten Gefäßsignaltyp auf. Auch Malignome würden anhand dieses Scores nicht richtig eingestuft werden. Ein Drittel der Vaskularisationstypen spricht eher für Gutartigkeit. 40% der Malignome wurden dem indifferenten Durchblutungstyp zugeordnet. Lediglich 30% der Tumoren wiesen richtigerweise den Vaskularisationsmuster „maligne“ auf (Tabelle 23).

Tabelle 23: Bewertung des Beobachtungsscores bei 25 benignen und 20 malignen Tumoren

Bewertung des Beobachtungsscores (Punktzahl)	Benigne Tumoren	Maligne Tumoren
Benigne (0-3)	6	6
Indifferent (4-8)	12	8
Maligne (9-12)	7	6

5 DISKUSSION

Basierend auf dem pathophysiologischen Mechanismus der Tumorneoangiogenese maligner Brusttumoren erhofft man, anhand der sonographischen Vaskularisationsanalyse eine Differenzierung zwischen benignen und malignen Tumoren vornehmen zu können (Milz et al., 1998). Zugrunde liegt die These, Malignome würden schneller und stärker Echosignalverstärker anreichern und seien insgesamt stärker vaskularisiert als gutartige Tumoren (Kedar et al., 1996).

Ergebnissen vorangehender Studien zufolge, könnte der Einsatz von Echosignalverstärkern die sonographische Differenzierung von Mammaläsionen verbessern (Kedar et al., 1994). Anhand computerunterstützter Ultraschallmethoden, mit deren Hilfe im zweidimensionalen Farbdoppler Anflutungskurven des Echosignalverstärkers analysiert werden können und in dreidimensionalen Untersuchungen genaue Aussagen über das gesamte Gefäßvolumen im Tumor getroffen werden können, wurde in der vorliegenden Arbeit untersucht, ob die teilweise vielversprechenden Ergebnisse der subjektiven Analyse der Vaskularisation (Kedar et al., 1996) mit modernen computerassistierten Methoden bestätigt werden können.

5.1 DISKUSSION DER METHODIK

5.1.1 PATIENTINNENKOLLEKTIV

Bei dem untersuchten Kollektiv handelt es sich um ein selektiertes Patientinnengut. Eingangskriterium war ein sonographisch nachweisbarer Mammatumor. Die meisten veröffentlichten Studien zum untersuchten Themenbereich greifen ebenfalls auf ein Kollektiv von zirka 40-60 Patientinnen zurück (Stuhrmann et al., 1998; Grüner et al., 1998; Delorme, Zuna et al., 1995). Nach Auswertung der eigenen Ergebnisse muß festgestellt werden, daß eine größere Fallzahl zur adäquateren statistischen Auswertung wünschenswert gewesen wäre. Von Interesse wäre z.B. auch die Frage, inwieweit sich die analysierten Parameter der einzelnen histologischen Untergruppen voneinander unterscheiden. Derart differenzierte und relevante Daten liegen momentan noch nicht vor.

5.1.2 ALTERSVERTEILUNG

Im untersuchten Kollektiv kann man einen signifikanten Unterschied in der Altersverteilung der Patientinnen mit benignen und malignen Brusttumoren feststellen. Die Frauen mit Krebs sind signifikant älter. Deren mittleres Alter von 56,6 Jahren liegt hierbei unter dem mittleren Erkrankungsalter von 63,5 Jahren, welches vom Bundesgesundheitsministerium für das Jahr 1999 angegeben wurde (Bundesgesundheitsministerium, 1999).

5.1.3 HISTOPATHOLOGISCHE UNTERSUCHUNG UND ERGEBNISSE

Bei dieser klinischen Studie galt die Histologie als Goldstandard. Die histologische Aufarbeitung der Schnittpräparate erfolgte standardmäßig nach HE-Färbung bei einer Schichtdicke von 4-5µm.

Es werden Arbeiten beschrieben, bei welchen histologische Gefäßuntersuchungen mit den sonographischen Diagnosen verglichen wurden. Grischke et al. z.B. korrelierten die Ergebnisse der Farbdopplersonographie mit der Pathoanatomie der Gefäße, die immunhistochemisch mit CD31-Antikörpern detektiert und stereologisch in einem dreidimensionalen Modell quantifiziert wurde. (Grischke et al., 1994). Chaudhari et al. untersuchten die Korrelation zwischen Histologie und Ergebnissen der

Farbdopplersonographie vor und nach Gabe von Levovist® in einer kleinen Population. Hierbei ergab sich eine signifikante Korrelation zwischen der histopathologischen Quantifizierung der Gefäße sowie der sonographischen Darstellung der Vaskularisation nach Levovist®-Gabe (Chaudhari et al., 2000). Diese Untersuchungen tragen zum Verständnis der morphologischen Korrelate dopplersonographisch dargestellter Strukturen bei.

In der vorliegenden Arbeit ist mit 34% aller Tumoren der Anteil der Fibroadenome sehr hoch. In einer Untersuchung von Delorme et al. machen Fibroadenome ebenfalls einen hohen Anteil der Tumoren aus. Hier sind in einem ersten Untersuchungsintervall 24%, in einem zweiten 30% der untersuchten Tumore Fibroadenome (Delorme et al., 1998).

Huber et al. korrelierten die Ergebnisse der computerassistierten Doppleruntersuchung mit Levovist® von Fibroadenomen mit histologischen Parametern wie der Gefäßdichte, epithelialer Hyperplasie sowie dem Alter der Patientinnen, der Tumorgöße und dem Hormonstatus. Diese Untersuchung zeigte, daß vor allem Fibroadenome junger Frauen, bei denen histologisch hohe Anteile von epithelialer Hyperplasie festgestellt wurden, einen signifikanten Anstieg der CPD nach Signalverstärker zeigten (Huber et al., 2001). Retrospektiv stellte sich heraus, daß die gut vaskularisierten Fibroadenome der vorliegenden Studie ebenfalls einen hohen Anteil an epithelialer Hyperplasie bei der histopathologischen Untersuchung aufwiesen. Der Hormonstatus dieser Patientinnen wurde nicht analysiert, doch es ist zu vermuten, daß die Einnahme oraler Kontrazeptiva ebenfalls die Vaskularisierung der Tumoren beeinflußt.

5.1.4 UNTERSUCHER

Die Versuchsanordnung mit Untersucher und Assistent hat sich in der vorliegenden Untersuchungsreihe bewährt. Zur Injektion des Echosignalverstärkers und Bedienung des PCs wurde eine zweite Person herangezogen, um dem Untersucher zu ermöglichen, den Schallkopf starr über der Läsion zu plazieren bzw. bei der Akquisition dreidimensionaler Datensätze mit konstantem Druck des Schallkopfes über die Läsion zu gleiten.

5.1.5 ECHOSIGNALVERSTÄRKER UND DOSIERUNG

Verwendet wurde SHU 508 A (Levovist[®]), ein Echosignalverstärker der zweiten Generation. Zum Zeitpunkt der Durchführung der vorliegenden klinischen Studie wurde Levovist[®] bei Studien über echosignalverstärkte Vaskularisationsanalysen von Mammatumoren standardmäßig eingesetzt. Aufgrund seiner Lungengängigkeit ist ein relativ langer maximaler Untersuchungszeitraum von 8-10 Minuten möglich. In der vorliegenden Untersuchung wurden Packungsgrößen von 2,5g Levovist[®] verwendet. Der Hersteller bietet außerdem 4g-Packungen an. Es wurde eine Konzentration von 400mg/ml gewählt.

Zur Untersuchung der zweidimensionalen Anflutungsparameter wurde ein Bolus von 5ml verabreicht, um möglichst schnell einen Anstieg der Konzentration zu erreichen. Bei der Akquisition der dreidimensional zu ermittelnden Farbvolumina war es das Ziel, über einen längeren Zeitraum eine ausreichende Konzentration in den Gefäßen zu erreichen. Daher wurde die doppelte Menge an Levovist[®] derselben Konzentration appliziert. Per Hand wurden 5ml der Suspension als Bolus, der Rest einschleichend mit einer Injektionsgeschwindigkeit von etwa 1ml/s injiziert.

Bezüglich der Konzentration und Dosierung des Echosignalverstärkers besteht kein einheitlicher Konsensus in der Mammadiagnostik. Der Hersteller empfiehlt in der Gefäßdupplersonographie zur Verstärkung sehr schwacher oder fehlender Dopplersignale die Applikation von 5-8ml Levovist[®] in einer Konzentration von 400mg/ml. Um gleichmäßige Verstärkungseffekte zu erzielen, sollte die Injektion möglichst konstant mit einer Geschwindigkeit von 1-2ml/s erfolgen (Schering, 1996). Da das Untersuchungsprinzip der Analyse der Anflutungsparameter dem anderer Studien ähnlich ist, kann mit deren Untersuchungsprotokollen verglichen werden. Einige Autoren verwendeten 10ml einer Levovist[®]-Suspension der Konzentration 300mg/ml (Huber et al., 1998; Stuhmann et al., 1998; Kedar et al., 1996). Der Parameter, der im Rahmen dieser Studien untersucht wurde, entspricht der Anflutungszeit T in der vorliegenden Arbeit. Bei den zitierten Untersuchungen ist dieser Zeitraum viel länger als in der eigenen Untersuchung. Eine detaillierte Aufführung dieser Werte folgt bei der Diskussion der Ergebnisse der Anflutungsparameter.

Der Literaturvergleich zeigt, daß die Injektion des Echosignalverstärkers in der Regel per Hand erfolgt. Bei einigen Studien wurde lediglich die Gabe als Bolus beschrieben. Daher ist anzunehmen, daß ebenfalls kein Perfusor verwendet wurde (Grüner et al., 1998; Stuhmann et al., 1998). Neben der Konzentration und der Absolutmenge der Suspension spielt die Injektionsgeschwindigkeit eine wesentliche Rolle. Diese wird durch das Gefäßlumen, das Lumen des Verweilkatheters und die Eigenschaften der Spritze (Stempelquerschnitt, Volumen) beeinflusst. Dieser systematische Fehler könnte durch eine Standardisierung anhand eines Perfusors behoben werden.

Ziel der Bolusgabe bei der Datenakquirierung der zweidimensionalen Anflutungsparameter ist jedoch die schnellstmögliche Injektion ins Gefäßlumen und das Erreichen einer möglichst großen Menge an Levovist® im Tumor. Daher sind die ersten 1-2 Sekunden der Injektion von Bedeutung. Bei der Injektion der geringen Menge von 5ml ist vorstellbar, daß sich die Werte nicht bedeutend von denen der manuellen Bolusgabe unterscheiden würden.

Bei der Applikation des Levovist® zur 3D-Datenakquisition wäre der Einsatz eines Perfusors eher zu empfehlen. Nach der initialen Bolusgabe könnte so die Konzentration im Blut über einen längeren Zeitraum konstant gehalten werden. Im vorliegenden Protokoll wurden insgesamt 10ml Levovist® verabreicht. Es ist vorzuschlagen, bei Einsatz eines Perfusors diese Menge zu erhöhen, um den Untersuchungszeitraum weiter zu verlängern. Das Untersuchungsintervall darf theoretisch nicht länger als 8 Minuten dauern, da nach dieser Zeit bereits die Hälfte der galaktoseumhüllten Luftbläschen abgebaut ist. Die Wartezeit von 2 Minuten nach Schütteln der Suspension, in der sich die Bläschen voll ausbilden, könnte zum Einspannen der Spritze in den Injektomat genutzt werden. Albrecht et al. untersuchten an Probanden den Effekt einer konstanten Infusion mit 3 verschiedenen Infusionsraten über einen Zeitraum von 15 Minuten und kamen zu dem Ergebnis, daß im Vergleich zur manuellen Bolusgabe eine artefaktärmere Darstellung der Anflutungskurven über den gesamten Zeitraum gewährleistet werden kann. Bei allen Infusionen war hierbei nach einer Anflutungszeit von 1-2 Minuten ein konstantes Plateau bis zum Infusionsende erkennbar (Albrecht et al., 1998).

Weiterhin tritt konstant ein nicht behebbarer Fehler durch individuelle Faktoren der Patientinnen auf. Kreislauffaktoren, Ort der Injektion und dessen Abstand zum Herzen

spielen dabei eine Rolle. In der vorliegenden Untersuchung wurde der Echosignalverstärker konstant in die linke Kubitalvene injiziert. Es bleibt zu evaluieren, ob die Ergebnisse bei einer Injektion jeweils ipsilateral zum Tumor wesentlich variieren würden.

5.1.6 HARD- UND SOFTWARE

Bei Verwendung des Systems der Firma 3D EchoTech® (Hallbergmoos, Deutschland) benötigt man einen leistungsfähigen PC mit einem großen Arbeitsspeicher. Daher wurde in der Mammographie-Abteilung des Instituts für Diagnostische und Interventionelle Radiologie der FSU Jena ein Personal Computer der Firma Siemens (Erlangen, Deutschland) installiert, der über zwei 200 MHz-Prozessoren, einen Festplattenspeicher von 3,4 GB sowie einen Arbeitsspeicher von 64 MB RAM verfügt.

Der Vorteil des verwendeten externen 3D-Freihandsystems liegt im Vergleich zu den integrierten 3D-Systemen in der Möglichkeit, bereits vorhandene Schallköpfe durch Befestigen des Positionssensors aufrüsten zu können (siehe Abbildung 1). Hierzu werden Linear- und Curved-Schallköpfe als auch Vaginalsonden verwendet. Außerdem ist das System an unterschiedlichen Ultraschallgeräten installierbar, sofern diese einen Video- oder RGB-Ausgang aufweisen (Nitsch et al., 1997). Aus wirtschaftlichen Gründen sowie variabler Einsatzmöglichkeiten ist dieses externe 3D-Ultraschallsystem daher sehr interessant (Sakas et al., 2000). Nachteil des Systems ist die fehlende Möglichkeit der Echtzeitrekonstruktion der 3D-Datensätze sowie eine relativ lange Datenverarbeitungszeit von mehreren Minuten um den gespeicherten Datenblock zu rekonstruieren (Sakas et al., 2000). Während der Untersuchung ist dies zur Beurteilung, ob eine Wiederholung der Aufnahme indiziert ist, ungünstig. Ein 3D-Scan bedarf mindestens 130 MB freier Speicherkapazität zur Speicherung der Rohdaten, eine Farbvolumenmessung über 2 Minuten etwa 100 MB. Daher wurde nach Untersuchung von 4-5 Patientinnen eine CD-ROM-Kopie erstellt und die Ursprungsdaten von der Festplatte gelöscht.

5.1.7 WAHL DER GERÄTEPARAMETER

Am PC wurde während der gesamten Untersuchungen in den Programmen QuantiCon® und 3D FreeScan® die Option „Halbbild“ verwendet (siehe Tabelle 1). Hierbei wird automatisch von den vom Ultraschallgerät gelieferten Bilddaten nur jeder zweite Pixel

des aufgenommenen zweidimensionalen Schnittbildes in x- und y-Achsen-Richtung auf dem PC gespeichert. Bei Aufnahme im Vollbild-Modus könnte der PC die Datenfülle nicht simultan speichern, so daß der Hersteller anrät, immer im Halbbild-Modus aufzunehmen. Außerdem wird im Protokoll der Computereinstellungen am PC die Auflösung bestimmt, mit der die übermittelten Daten auf dem PC gespeichert werden. Diese wurde bei der Analyse der Anflutung kleiner gewählt (2 Bilder pro Sekunde) als bei der dreidimensionalen Darstellung (6 Bilder pro Sekunde), da bei den Anflutungsparametern der Schallkopf stationär angebracht wurde und somit der größte Teil der Informationen, die hierbei im Verlauf der Zeit akquiriert werden, identisch sind (umgebendes Gewebe, Tumor). Es ändern sich nur die Bildinformationen, die durch Blutfluß oder sonstige Bewegungen erzeugt werden. Da die Anflutung des Echosignalverstärkers meist sehr intensiv erfolgt, reicht die geringere Anzahl an gespeicherten Bildern pro Sekunde aus. Es wird außerdem die Weiterverarbeitungszeit verkürzt und Speicherkapazität eingespart. Zur dreidimensionalen Aufnahme wurde eine höhere Auflösung bestimmt. Es soll hierbei möglichst viel Information während des Entlanggleitens über den Tumor gespeichert werden, da jede einzelne Schicht des Tumors während des Scans nur kurz zur Darstellung kommt.

Den gewählten Ultraschallparametern liegt die Erfahrung eines Untersuchers zugrunde, der sich auf dem Gebiet der Mammasonographie spezialisiert hat. Sie wurden so gewählt, daß eine bestmögliche Bildgebung der niedersten Flußraten in Gefäßen bei möglichst artefaktfreiem Bild ermöglicht wurde. Um konstante Untersuchungsbedingungen zu haben, sollte eine maximal mögliche Anzahl an Parametern standardisiert werden.

Die Entfernung des Mammatumors vom Schallkopf variiert je nach Lage des Tumors und Größe der Brust von etwa 0,5 bis 6cm bei einer liegenden Patientin. Bei zunehmender Tiefe der darzustellenden Struktur wird die Empfindlichkeit der Detektion schwacher Farbsignale negativ beeinflusst. Individuelle und altersbedingte Texturunterschiede des dazwischenliegenden Gewebes machen weiterhin deutlich, daß es sehr schwierig sein kann, bei ansonsten standardisierten Geräteparametern ein optimales Untersuchungsergebnis zu erhalten. Weiterhin sind Tumorgroße sowie die Größe der Farbbox zur Dopplerdarstellung nicht standardisierbar. Bei Ultraschalluntersuchungen unter Studienbedingungen besteht für den Untersucher daher

immer das Problem, eine Qualitätseinschränkung der Aufnahme zugunsten der Standardisierbarkeit der Studienbedingungen zu akzeptieren oder gute Qualität der Aufnahmen bei unter Umständen mangelnder Reproduzierbarkeit hinzunehmen. (Delorme et al., 1998).

Es wurde ein den Standards der Mammasonographie entsprechender hochfrequenter 7,5 MHz Linear Array Ultraschallkopf verwendet. Je höher die einstrahlende Frequenz der Ultraschallsonde ist, desto höher ist die axiale Auflösung. Allerdings nimmt dadurch die Eindringtiefe des Ultraschalls ab (Lagalla und Midiri, 1998).

Um langsamen Blutfluß darzustellen, sollte die PRF möglichst nieder eingestellt werden. In Voruntersuchungen wurde jedoch festgestellt, daß dann durch Gewebsbewegungen sehr große Artefakte auftreten. Daher wurde eine mittlere PRF von 868Hz gewählt. Die Color Gain ist ein Maß der Verstärkung, das ebenfalls die Empfindlichkeit gegenüber schwachen Signalen kodiert. Bei zu hoher Verstärkung findet man ein bunt übersätes Farbdopplerbild, da dann Gewebebewegungen auch als Blutfluß interpretiert werden. Bei der Anflutung des Kontrastmittels kann außerdem initial Blooming auftreten. Hierbei werden Graupixel als Farbwerte dargestellt, da durch starke Dopplersignale oberhalb einer Grenze die Signale als Farbpixel interpretiert werden (Forsberg et al., 1994). Um möglichst sensibel schwachen Blutfluß detektieren zu können, jedoch Artefakte möglichst gering zu halten, wurde die Color Gain im oberen Bereich mit 70dB gewählt. Die Leistung des Ultraschallgerätes wurde bei der zweidimensionalen Untersuchung auf 63%, bei den dreidimensionalen Aufnahmen auf 100% eingestellt. So kann vor allem bei der Untersuchung der Kurvenverläufe, bei der ab Bolusstart gemessen wurde, das Blooming abgefangen werden. Bei den dreidimensionalen Messungen wurde daher erst 20s nach Bolusgabe die Akquisition gestartet.

Bei Auswertung der zweidimensionalen Untersuchung konnte das Blooming gut identifiziert werden. Bei Vorliegen trat es oft einem Schallschatten ähnlich unterhalb des Tumorgefäßes auf. Da die im zeitlichen Verlauf hintereinandergereihten zweidimensionalen Bilder in dem resultierenden dreidimensionalen Block auch von lateral betrachtet werden können, kann man diesen Bloomingschatten erkennen und die ROI jeweils so einzeichnen, daß er nicht als Anflutung des Levovist® analysiert wird.

5.1.8 ABLAUF DER UNTERSUCHUNG

Eine sonographische Untersuchung ist immer orientiert an den individuellen Unterschieden der untersuchten Gewebe und Strukturen. Es ist außerordentlich schwierig, eine Ultraschalluntersuchung zu standardisieren, da sie nicht nur von den gewählten Geräteparametern abhängt, sondern auch von Faktoren des Untersuchers wie z.B. Druck des Schallkopfes auf das Gewebe. Bei der Mammasonographie ist dies noch schwieriger, da die Brust ein freiliegendes, bewegliches Organ ist und Tumoren jederzeit unter dem Schallkopf weggleiten. In der Literatur sind wenige Verfahren in Analogie zur Mammographie beschrieben, bei denen die Brust ebenfalls komprimiert wurde. Bei einem System, mit dessen Hilfe auch dreidimensionale Daten akquiriert werden, wird z.B. die Brust zwischen einer Ebene und einer Plexiglasplatte komprimiert. Letztere verfügt über ein Fenster, das den Hautkontakt des Ultraschallgerätes erlaubt (Hernandez et al., 1998). Zur zweidimensionalen Vaskularisationsanalyse wurde von Huber et al. die Ultraschallsonde an einem Stativ befestigt, doch auch mit Hilfe dieser Fixierung traten schwankende Kurvenverläufe auf (Huber et al., 1998).

Die Wahl der Untersuchungsebene des Tumors bei der Analyse der Anflutung wurde in der vorliegenden Untersuchung getroffen, indem der Untersucher die Stelle des größten Tumordurchmessers aufsuchte. Andere Untersucher wählten die Ebene, in welcher die meisten Gefäße ohne Echosignalverstärkung zu sehen waren. Lagen keine Gefäßsignale vor, wurde dann die Ebene des größten Tumordurchmessers gewählt (Huber et al., 1998), Stuhmann et al. untersuchten „einen repräsentativen Tumorquerschnitt“ (Stuhmann et al., 1998). Die Wahl der Untersuchungsebene ist somit ebenfalls untersucherabhängig und bei den meisten Untersuchungsprotokollen willkürlich. Menna et al. umgingen die Problematik der Wahl der Tumorebene, indem sie einen Teil der Levovist®-Suspension als Bolus verabreichten, um die am besten geeignete Tumorebene ermitteln zu können. In der vorliegenden Untersuchung galt jedoch die Vorgabe, nur die erste systemische Gabe von Levovist® zur Anflutungsdiagnostik zu verwenden, um analog zu Menna et al. zu vermeiden, daß eventuell noch vorhandene Levovist®-Bläschen aufgezeichnet werden (Menna et al., 1999). Weiterhin sind die Ergebnisse abhängig vom Druck, den der Radiologe mit dem Schallkopf auf das Gewebe ausübt und somit potentiell Gefäße komprimiert.

Bei der Aufnahme der Anflutung wurden die Patientinnen aufgefordert, möglichst flach zu atmen, um Bewegungsartefakte, die durch Thoraxexkursionen entstehen, zu vermindern. Die Patientinnen waren diesbezüglich sehr compliant, dennoch traten diskrete Artefakte durch Bewegungen des Gewebes oder leichte Kippbewegungen der Ultraschallsonde auf. Dies ist generell ohne Automation der Aufnahme nicht zu vermeiden.

Da die 3D-Aufnahmen höchstens 20s pro Entlanggleiten über den Tumor („Sweep“) in Anspruch nahmen, wurden bei diesem Untersuchungsabschnitt die Patientinnen aufgefordert, während der Aufnahmen nicht zu atmen. Von mehreren Aufnahmen wurde die qualitativ beste selektiert. Bei dem etwa 10-15 Sekunden dauernden Sweep über den Tumor ist es auch wichtig, trotz möglicher Unebenheiten des Gewebes den Schallkopf gerade zu führen. Die fehlende Automatisierung der Aufnahme ist hier ein möglicher Kritikpunkt. Manchmal wenden Autoren Kompressionssysteme an, um eine annähernd parallele Führung des Schallkopfes zu ermöglichen und den Tumor nicht zu komprimieren (Hernandez et al., 1998; Moskalik et al., 1995). Dies ist ein erster Schritt in Richtung automatisiertes Abfahren (Scannen) der Brust. Von beiden Gruppen wird über eine verbesserte Darstellbarkeit der Tumoren berichtet, die jedoch sicher von der Lokalisation des Tumors abhängt. Thoraxwandnahe als auch exzentrisch gelegene Tumoren sind weiterhin nur anhand der herkömmlichen Methode darstellbar.

Die Akquisition der dreidimensionalen Daten erfolgte etwa 20s nach Bolusgabe, da die initiale Anflutung mit einem starken Blooming, einer Übersteuerung der Signale beim Erreichen des Levovist® im Gefäß, einhergehen kann. Das Gefäß erscheint im Farbdopplerbild dadurch „aufgebläht“ und würde bei der Beurteilung der Morphologie der Gefäße fälschlicherweise als sehr kräftiges Gefäß beurteilt werden (Huber et al., 1998).

5.1.9 BEARBEITUNG UND AUSWERTUNG DER DATEN

Die Auswertung der erhobenen Daten erfolgte semicomputerassistent. Zuerst wurde die Genauigkeit des zeitlichen Verlaufs der Anflutungskurve sowie der Darstellung der Farbpixelvolumina durch die Aufnahme anhand der Softwareprogramme QuantiCon® und 3D FreeScan® gesichert. Die Auswertung wurde nach Akquisition der Daten aller Tumoren durchgeführt. Die Bestimmung der sonographisch darstellbaren

Tumorgrenzen beim Einzeichnen der Region of Interest (ROI) mit dem Cursor erfolgte nach den allgemeinen Richtlinien der Mammasonographie (Tavassoli et al., 1997), siehe Abbildung 2. Ein zirka 1cm breiter Randsaum wurde als Umgebung des Tumors definiert und als zweite ROI bestimmt. Diese Auswertung ist fehlerbehaftet, da die Tumorgöße nicht mit in Betracht gezogen wurde. Bei sehr kleinen Tumoren nimmt der Umgebungssaum daher einen größeren Anteil im Verhältnis zur Tumorfläche ein, als bei großen Tumoren. Der Saum von 1cm wurde einerseits gewählt, da bei einer Breite der Ultraschallsonde von 4cm ein Tumor mit 2cm Tumordurchmesser inklusive Randsaum gerade noch gemessen werden konnte. Andererseits besteht im verwendeten Softwareprogramm 3D FreeScan® keine Möglichkeit, einen entsprechenden anteilmäßigen Randsaum bzw. bei den dreidimensionalen Messungen einen Mantel zu berechnen und einzuzichnen. Dieser systematische Fehler mindert die Aussagekraft der Anflutungsparameter in der Umgebung des Tumors.

5.1.9.1 ZWEIDIMENSIONALE DATEN DER ANFLUTUNG

Da bei der Auswertung im Tumorbereich nur eine ROI markiert wurde, müssen die Ergebnisse immer auf die Gesamtfläche der untersuchten Tumorebene bezogen werden. Alle Werte sind somit als Summen aus allen Regionen des Tumors zu betrachten. Es wurde z.B. nicht unterschieden zwischen nekrotischen Bezirken und einer eventuell stärker vaskularisierten Randregion des Tumors. Im Tumor wurde also nicht nach Regionen der maximalen Anreicherung gesucht, sondern eine Tumorebene als ganzes betrachtet. Eine genaue Differenzierung der verschiedenen Regionen im Tumors ist mit der momentan verfügbaren Ultraschalltechnik nicht möglich (siehe Abbildungen 7).

Es wurde nur die erste Minute nach Bolusgabe in die Auswertung in Excel® übernommen, da der höchste Anstieg der Intensität immer innerhalb dieses Zeitraumes erfolgte. Dieser Anstieg stellt einen markanten Punkt im Kurvenverlauf dar und ist bei den meisten Kurven eindeutig definierbar. Im weiteren Verlauf traten bei einigen Kurven unregelmäßige Schwankungen auf. Gegen Ende der Aufnahmezeit begann bei manchen Tumoren bereits die Auswaschphase, das „Wash-out“. Diese Phase ist in der vorliegenden Arbeit nicht von Interesse, da in Vorversuchen die Abflutung des Kontrastmittels keinen weiteren Informationsgewinn erwarten ließ. Es werden Arbeiten beschrieben, bei denen An- und Abflutung des Signalverstärkers untersucht werden. Hier werden z.B. drei verschiedene karzinomtypische Auswaschkurven beschrieben

(Menna et al., 1999). Die Zeit der Abflutung ist jedoch sehr großen nicht steuerbaren Einflüssen wie z.B. den Kreislaufparametern der Patientin, Verrutschen des Schallkopfes aus der Untersuchungsebene sowie Atemartefakten unterworfen.

Die Auswertung der Daten erfolgte in Excel. In den Kurvenverläufen wurden hierbei die Werte der einzelnen Parameter ermittelt und markiert. Um vergleichbare Daten zu erhalten, wurde eine Anstiegsgerade durch Verbindung der Punkte P1 und P2 definiert.

P1 wurde als Mittelwert der x- und y-Werte von S1 und D1 festgelegt und stellt jeweils den letzten Mittelwert des systolischen Höhepunkts mit dem folgenden diastolischen Tiefpunkt vor dem Anstieg dar. P2 ist der höchstmögliche Mittelwert des Wertepaares von S2 und D2 im gesamten Kurvenverlauf (Vergleiche Abbildung 3). Da die Wahl dieser Punkte nach visueller Analyse des Kurvenverlaufs erfolgte, besteht hierbei ein gewisses Fehlerpotential. Eventuell könnte die Festlegung der Werte optimiert werden, indem im Softwareprogramm Excel immer dann vom Anstieg der Kurve ausgegangen wird, wenn der nachfolgende Mittelwert den vorangehenden um einen bestimmten prozentualen Anteil überragt. Andere Autoren beschreiben meist den Verlauf der Anflutungskurven deskriptiv, ohne charakteristische Parameter zu definieren. Menna et al. beschreiben z.B. monophasische, polyphasische und plateauförmige Kurvenverläufe (Menna et al., 1999). Lediglich die Zeiträume bis zur maximalen Anflutung (in der vorliegenden Studie T) werden bestimmt (Huber et al., 1998). Mit der Festlegung der Punkte P1 und P2 sowie der Anstiegsgeraden wurden in der vorliegenden Untersuchung die Kurvendaten erstmals in der Literatur sehr präzise aufgearbeitet, um reproduzierbare Kurvencharakteristika zu analysieren.

Da die Kurven durch systolische und diastolische Oszillationen charakterisiert sind, wäre es sinnvoll, zur genauen Beurteilung den gesamten Kurvenverlauf zu glätten. Momentan ist dies laut Huber et al. (Huber et al., 1998) sowie in der eigenen Untersuchung noch nicht möglich, da aufgrund der geringen Bildaufnahmerate von 2bps eine Glättung nicht sensibel genug durchgeführt werden kann. Eine weitere Möglichkeit besteht in der EKG-Triggerung. Bauer et al. nutzten diesen methodischen Ansatz in der dreidimensionalen echosignalverstärkten transkraniellen Doppler-Diagnostik. Hierbei kann sowohl ein systolischer als auch ein diastolischer Datensatz erhoben werden (Bauer et al., 1998). Um diese Probleme zu umgehen, wurden durch Mittelwertbildung der Koordinaten von S1 und D1 bzw. S2 und D2 die Steigung und

die Anstiegszeit berechnet. Zusätzlich werden so artefaktbedingte Extremwerte (z.B. durch starkes Blooming) relativiert. Allerdings liegen mögliche Variationen im Bereich von Bruchteilen einer Sekunde. Bei einer Bildrate von 2 Bildern pro Sekunde sowie der Pulsationen im Gefäß und der somit nicht immer zu garantierenden Koinzidenz zwischen Maximalwerten der Systole und Diastole mit dem Moment der Datenaufnahme, würden auch bei computerisierter Ermittlung der Daten nicht immer vollständig korrekte Werte ausgewertet werden. Die angewendete Methode ist sicherlich nicht die optimalste Lösung des Problems. Im Vergleich zu anderen Autoren (z.B. Huber et al., 1998 b) stellt sie jedoch immerhin einen Ansatz dazu dar.

5.1.9.2 DREIDIMENSIONALE DATEN

Beim 3D FreeScan[®]-System ist eine Echtzeitdarstellung nicht möglich. Man benötigt für die Rekonstruktion des Volumenblockes einige Minuten. Zum Bestimmen der ROIs wird der Tumorblock in Hundertstelmillimeterschritten aufgearbeitet, um analog zu Abbildung 6 bei Änderung der sonographischen Tumorgrenzen diese neu einzuzeichnen. Eventuelle Fehlinterpretationen der Markierung sonographisch sichtbarer Tumorgrenzen liegen daher in der Größenordnung von Hundertstelmillimetern. Auch hier wurde ein Randsaum von 1cm eingezeichnet, der jedoch nur für die morphologische Beurteilung eine Rolle spielt (vergleiche Abbildung 12). Nach dieser Bearbeitung wurden am PC die Tumervolumina berechnet.

In der Nachverarbeitung kann der Tumor aus jeder beliebigen Perspektive und in jeder Ebene (auch schräge Ebenen) betrachtet werden (Steiner et al., 1994). So wurde die Beurteilung anhand des Beobachtungsscores vorgenommen. Diese Auswertung erfolgte subjektiv, wobei die in Tabelle 2 dargestellten Kriterien beurteilt wurden. Die segmentierten Tumoren wurden analysiert, nachdem die Volumina mit und ohne Farbpixel bzw. nur die Farbsignale dargestellt wurden. Sie wurden in Transparenz und Oberfläche verändert.

Mit dem System 3D FreeScan[®] der Firma EchoTech (Hallbergmoos, Deutschland) ist eine Echtzeitdarstellung nicht möglich. Nach Berechnung und Rekonstruktion des Volumens am PC, was etwa eine halbe Minute dauert, benötigt man pro Tumor für Segmentation, Weiterverarbeitung und Beurteilung etwa weitere 30 Minuten Bearbeitungszeit. Die beste Möglichkeit, die räumliche Anordnung der Gefäßsignale zu erfassen, bietet hier die Darstellung der Signale im Rotationsmodus. Hierbei dreht sich das Volumen um eine Achse in wählbarer Bildrate. Gefäßwindungen wurden so sehr gut dargestellt und erst jetzt erhielt man einen Gesamteindruck über den räumlichen Aufbau eines Gefäßkonvolutes bzw. der räumlichen Relation zum Tumor. Jede andere Darstellungsmethode reduziert die Dreidimensionalität auf die zweidimensionale Darstellung am Bildschirm (Steiner et al., 1994). Um die Vaskularisationstypen besser vergleichen zu können, wurden entsprechend des Beobachtungsscores Punkte von 0-2 vergeben (Tabelle 2).

5.1.10 STATISTISCHE AUSWERTUNG

Der Vergleich der Mittelwerte wurde im Statistikprogramm SPSS[®], Version 10.0 anhand des Wilcoxon-Tests vorgenommen. Der Student-t-Test besitzt eine größere Teststärke als der Wilcoxon-Test. Da er tatsächlich bestehende Differenzen zwischen den beiden zu vergleichenden Gruppen mit höherer Wahrscheinlichkeit aufdeckt, hat er einen kleineren Fehler 2. Art. So wurde er, wenn es nach dem statistischen Reglement möglich war, zur Kontrolle ebenfalls durchgeführt. Die Auswertung der vorliegenden Daten führt bei beiden Tests zum gleichen Ergebnis und man beschränkte sich auf die Angabe der Irrtumswahrscheinlichkeit des Wilcoxon-Tests. Der Vergleich zwischen verschiedenen Diagnosegruppen erschien aufgrund der zu kleinen Fallzahlen nicht sinnvoll.

Aufgrund der kleinen Anzahl an untersuchten Tumoren liegt meist eine große Variabilität der Werte vor, die sich in den teilweise sehr hohen Standardabweichungen spiegelt. Durch die große Streubreite der Werte (vor allem der Anflutungszeiten) überlappen sich die Ergebnisse beim Vergleich zwischen den verschiedenen Dignitätsgruppen teilweise stark. Es lag daher meist kein signifikanter Unterschied vor.

5.2 DISKUSSION DER ERGEBNISSE

5.2.1 GEWERTETE TUMOREN

In der durchgeführten Anflutungsdiagnostik galt die Vorgabe, daß nur die erste systemische Gabe des Echosignalverstärkers für die Analyse verwendet werden darf (Vgl. 5.1.8). Aus diesem Grunde wurde bei dem Fibroadenom, das kontralateral einer Melanommetastase exstirpiert wurde, auf die Analyse der Anflutung verzichtet. Da immer ein zusätzlicher Rand von 1cm bei beiden Untersuchungsschritten eingezeichnet wurde, limitierte neben der Breite des Ultraschallkopfes die maximale Größe des Farbfensters der FKDS die Auswertung.

Ab einer Größe der Farbbox von etwa 4cm mal 4cm traten bei der dreidimensionalen Untersuchung Probleme der Datengenerierung auf, da das Ultraschallgerät wegen der großen Menge an Dateninputs nur noch einen Bruchteil der Schnittbilder der Untersuchung übermitteln kann. Aufgrund dieser technischen Probleme konnten vier Tumoren nicht in die Auswertung einbezogen werden.

Bei der statistischen Auswertung der Anflutungsparameter waren unter den 26 benignen und 22 malignen Tumoren acht benigne und vier maligne, die keine Anflutungskurve des Levovist[®] zentral oder in der Umgebung zeigten. Sie wurden einbezogen, da sie dennoch vereinzelt Farbsignale aufwiesen.

Die volumetrische Auswertung der dreidimensionalen Daten zeigte weiterhin bei zwei benignen Tumoren in der definierten ROI kein Farbsignal. Im Rahmen der subjektiven Auswertung zur Beurteilung der Morphe wurde bei vier gutartigen sowie einem bösartigen Tumor kein Signal im Tumorzentrum erkannt. Da jedoch einzelne Farbsignale bei der Analyse der Anflutung im Tumor sowie der Beurteilung der Morphe in der Umgebung zu sehen waren, wurden diese Tumore ebenfalls in die Statistik einbezogen. Dementsprechend wurden die arithmetischen Mittelwerte stark nach unten korrigiert. Die Standardabweichungen nahmen jeweils zu.

5.2.2 ZWEIDIMENSIONALE DATEN DER ANFLUTUNG

Die dynamische Analyse der Anflutung kann sowohl deskriptiv als auch computerunterstützt vorgenommen werden. Die deskriptiven Methoden sind sehr zeitaufwendig und haben den Nachteil der Subjektivität. Huber et al. berichten in ihrer Studie von einem Unterschied von bis zu 60s in der Anflutungszeit von Levovist® in Mammatumoren bei der Beurteilung durch zwei verschiedene Untersucher (Huber et al., 1998). Aus diesem Grunde ist eine quantitative assistierte Methode der Farbbestimmung zu bevorzugen.

In der vorliegenden Arbeit wurden computerassistent Zeitverlaufskurven des MCV (mittlerer Farbwert) sowie der CPD (Farbpixeldichte) innerhalb der eingezeichneten ROI erstellt. Die Anflutungszeit T und die Anstiegszeit t(m) wurden anhand der Kurven des MCV ermittelt und sind - bis auf eine vermutlich systembedingte zeitliche Verzögerung von 0,3-0,4s - insgesamt identisch mit den Zeiten des Kurvenverlaufs der CPD.

Entgegen der Erwartungen von Huber et al. wurde neben des Anstiegs der CPD (Farbpixeldichte) auch eine Zunahme des MCV (Änderung der Farbtöne) nach Kontrastmittelgabe beobachtet. Der Maximalwert des MCV korreliert signifikant mit dem der CPD (Pearson Korrelationskoeffizient = 0,91) (siehe Abbildung 11).

Der MCV stellt die qualitative Bestimmung des Dopplershifts dar. Rein physikalisch müßte bei Änderung dieses Wertes also eine Änderung der Geschwindigkeit des Blutflusses im Gefäß vorliegen (Huber et al., 1998). Dies ist jedoch aufgrund der sehr kleinen Injektionsmenge von 5ml ebenso wenig durch eine Änderung der Viskosität durch Blutverdünnung wie durch reflektorische Zunahme der Ejektionsfraktion des Herzens zu erwarten (Forsberg et al., 1994; Petrick et al., 1997). Huber bezeichnet den Wert daher als „mittleren Farbwert“, im Gegensatz zu Bell, der weiterhin von „mittlerer Flußgeschwindigkeit“ spricht (Bell et al., 1995; Huber, 1998). Die Erklärungsversuche verschiedener Autoren zur Zunahme des MCV sind kontrovers. Eventuell ist die Zunahme des Wertes nur artefaktbedingt (Petrick et al., 1997). Ein möglicher Mechanismus wird als „non-backscatter-effect“ bezeichnet. Hierbei zerplatzen infolge der eingestrahlten Ultraschallenergie die Kontrastmittel-Bläschen. Dies führt zu einem nichtlinearen Signalanstieg (Tiemann et al., 1997). In der Literatur wird dieser Effekt

als „Sono-Scintigraphy“, „Loss of Correlation (LOC) imaging“, „flash echo imaging“ sowie „Stimulated Acoustic Emission (SAE)“ beschrieben (Blomley et al., 1998).

Die Zunahme des MCV nach Gabe von Levovist® ist aber auch durch die zusätzliche Darstellung langsamer Blutflüsse, die ohne Signalverstärkung nicht erkannt werden, erklärbar. Somit ändert sich neben der Farbpixeldichte auch die Gesamtflußgeschwindigkeit durch Addition der Einzelflüsse in den neoangiogenetisch entstandenen abgebildeten kleinkalibrigen Blutgefäßen.

Bei der Auswertung der Kurvenverläufe ist zu beachten, daß die Anflutungskurven des Echosignalverstärkers in der Sonographie nicht mit den dynamischen Verläufen der Mamma-MRT verglichen werden dürfen, da der Echosignalverstärker Levovist® intravasal verbleibt und nicht ins umgebende Gewebe übertritt. Bei der MRM liegt aufgrund von Diffusion durch geschädigte Endothelien ein anderer Verteilungsraum des applizierten Kontrastmittels vor (Kaiser und Zeitler, 1989).

Ein Großteil der Ergebnisse sowohl der Auswertung der Anflutungsparameter als auch der anderen Unterpunkte variiert sehr stark und meist ist die Standardabweichung sehr hoch. Dies liegt in der Tumorheterogenität als auch der relativ geringen Zahl an untersuchten Tumoren begründet. Bei der Ultraschalldiagnostik handelt es sich um ein dynamisches Verfahren. Daher können im Rahmen des Literaturvergleichs zwischen den verschiedenen Untersuchern auf diesem Gebiet bei fehlender Möglichkeit der absoluten Standardisierung aller Parameter nur Tendenzen verglichen und diskutiert werden.

5.2.2.1 MEAN COLOR VALUE

Der Anflutungsparameter, der in bereits publizierten Studien ebenfalls untersucht wurde, ist die Anflutungszeit T, die Zeit von Bolusstart bis zum Maximum des Kurvenverlaufs. T ist unter Einbeziehung aller hier untersuchten Läsionen im Mittel im Zentrum benigner Tumoren mit 18,6s (SD 15,7) zwar etwas kürzer als bei Malignomen (23,4s (SD 4,8)), der Unterschied ist jedoch nicht signifikant (siehe Tabelle 5).

Bei den subjektiven Verfahren zur Auswertung der Anflutungszeit T von Kedar et al. und Stuhmann et al. ist die Anflutungszeit bei Malignomen im Mittel kürzer als bei benignen Tumoren. Im Gegensatz zur Untersuchung von Kedar et al. war der

Unterschied bei Stuhmann et al. nicht signifikant (Kedar et al., 1996; Stuhmann et al., 1998). Auch bei computerassistierten Auswertungen der Farbpixel wird bestätigt, daß in der Regel Malignome schneller Kontrastmittel anreichern als benigne Tumoren (Delorme et al., 1995; Huber et al., 1998; Kedar et al., 1995). Menna et al. analysierten computerassistiert wash-in und wash-out Kurven der Tumoren und kamen ebenfalls zu dem Ergebnis, daß bei Malignomen die Anflutung schneller und der Höhepunkt („Peak“) der Kurven früher erfolgt (Menna et al., 1999).

Beim Vergleich der eigenen Ergebnisse mit denen anderer Autoren spielt die Verteilung der histologischen Entitäten sowie Faktoren des Patientengutes, wie z.B. die Altersverteilung und Hormonstatus, eine wichtige Rolle. In der vorliegenden Untersuchung waren 60% der gutartigen Tumore Fibroadenome. Sechs der insgesamt 18 untersuchten Fibroadenome traten bei Patientinnen unter 30 Jahre auf. Diese Tumoren sind teilweise sehr gut vaskularisiert mit relativ deutlichen, großlumigen Gefäßen. Für Fibroadenome in dieser Altersgruppe wird dies auch histologisch häufig beschrieben (Weind et al., 1998). Huber et al. bestätigen dies ebenfalls und fanden heraus, daß Fibroadenome, die eine gute Anflutung des Signalverstärkers aufzeigten, histopathologisch mit einem hohen Anteil an epithelialer Hyperplasie korrelierten (Huber et al., 2001).

Bei den oben genannten Untersuchungen ist der Zeitraum bis zum Erreichen des Höhepunktes der Zeitverlaufskurven im Vergleich zu den Daten der vorliegenden Studie sehr groß. In der ebenfalls computerassistierten Studie von Huber et al. dauert die Anreicherung in gutartigen Tumoren im Mittel länger als eine Minute (Huber et al., 1998). Die im Vergleich zur vorliegenden Untersuchung über doppelt so langen Anflutungszeiten der oben genannten Autoren könnten z.B. durch stärkere Kompression des Tumors und Abklemmen der Gefäße durch den Druck des Schallkopfes erklärbar sein. Außerdem wird der Zeitraum T aufgrund seiner relativ langen Zeitdauer maßgeblich durch physiologische Parameter der Patientinnen (Herzminutenvolumen, Blutdruck, Hormonstatus) beeinflusst.

Daher wurde in der vorliegenden Untersuchung weiterhin die Anstiegszeit $t(m)$ untersucht. Dieser neu definierte Parameter wird aufgrund seiner relativen Kürze weniger durch physiologische Faktoren beeinflusst. Es spielen im wesentlichen Injektionsgeschwindigkeit und Konzentration des Echosignalverstärkers eine Rolle. Die

Anstiegszeit $t(m)$ ist definiert als Zeitraum vom Beginn des Anstieges bis zum Erreichen der maximalen Intensität. Diese Zeit kann nur über die computerassistierte Auswertung beurteilt werden und könnte unter der Annahme veränderter Gefäße in Malignomen (veränderte Gefäßwiderstände, Pooling, Shunts) eine Aussage über die jeweilige Dignität des Tumors zulassen. Im untersuchten Patientinnengut lag dieser Zeitraum bei benignen Tumoren bei 5,5 s (SD 5,6), bei Malignomen bei 9,1 s (SD 7,7). Der Vergleich unterscheidet sich nicht signifikant. Median und Mittelwert werden bei diesem Parameter durch die acht benignen und vier malignen Tumoren, die keine Anflutungskurve aufweisen, nach unten korrigiert. Die Werte größer 0 sind bei beiden Dignitätsgruppen gleichmäßig verteilt.

Obwohl nicht signifikant, kann auch bei der Untersuchung der Anstiegszeit $t(m)$ ein Trend zu längeren Anflutungszeiträumen bei Malignomen verzeichnet werden (vergleiche die „ideale“ Kurve, Abbildung 10). Eventuell ist dies durch das Modell von histologisch veränderten Mikrogefäßen erklärbar, in denen ein Pooling des Kontrastmittels stattfindet.

Des weiteren wurde als zusätzlicher Parameter die Steigung m in der vorliegenden Studie beurteilt. Da es Ziel der Untersuchung war, einen typischen Kurvenverlauf für die beiden Dignitätsgruppen zu ermitteln, wurden jeweils markante Punkte der Kurven analysiert (Beginn und Ende des Anstiegs). Die ermittelte Anstiegsgerade nähert sich dem wirklichen Kurvenanstieg relativ präzise. Daher ist die Steigung der Anflutungsgeraden ebenfalls ein Charakteristikum, um den genauen Verlauf der Kurve zu beschreiben. Neben der Anstiegszeit fließt auch die Differenz zwischen dem maximalen und dem minimalen Farbwert der Farbpixel in diesen Wert mit ein. Die Steigung der Anstiegsgeraden ist bei benignen Tumoren mit $1,3 \text{ cm/s}^2$ (SD 1,5) nicht signifikant verschieden zur Geradensteigung der Malignome mit $2,1 \text{ cm/s}^2$ (SD 6), $p=0,83$. Die hohe Standardabweichung bei den Malignomen wird durch ein DCIS, dessen Steigung $28,6 \text{ cm/s}^2$ beträgt, erklärt. Dieser Wert liegt in großem Abstand zum nachfolgenden Wert mit $3,45 \text{ cm/s}^2$ (vergleiche Tabellen 5-7). Wird dieser Maximalwert nicht in die Berechnung des arithmetischen Mittels einbezogen, so liegt der Mittelwert bei $0,83 \text{ cm/s}^2$ und damit unterhalb des Durchschnittswertes der benignen Tumoren. Insofern haben die Werte der Steigung der Anflutungsgeraden nur bedingt Aussagekraft.

Der Literaturvergleich zeigte, daß auch DCIS eine angiogenetische Potenz aufweisen. Vermutlich führt beim DCIS eine lokale interstitielle bzw. den betroffenen Duktus umgebende Inflammation zu einer Anregung der Gefäßneubildung (Lee et al., 1999). In der Ultraschalldiagnostik spielen die nichtinvasiven Mammakarzinome aufgrund mangelnder Ultraschallkriterien eine untergeordnete Rolle. Somit kann auch wenig über die Vaskularisationsanalyse von DCIS mit Ultraschall ausgesagt werden. In den bisher durchgeführten Studien treten DCIS nur als kleine Tumorentitäten auf (Stuhrmann et al., 1998). Ein Vergleich mit anderen histologischen Gruppen konnte daher bisher nicht vorgenommen werden. In der vorliegenden Untersuchung stellt der Ausreißer-Wert in der Kurvenanalyse, der durch ein DCIS verursacht wurde, eine Ausnahme dar.

5.2.2.2 COLOR PIXEL DENSITY

Die Farbpixeldichte CPD im zweidimensionalen Bild ist ein quantitatives Maß der Vaskularisation (Delorme et al., 1998). Die Analyse der CPD anhand von CPD_{prae} (Farbdichte vor dem Anfluten von Levovist®) und CPD_{post} (Farbdichte am Höhepunkt der Anflutung) im Tumorzentrum erbrachte, daß der Anteil an Farbpixeln vor Anflutung des Echosignalverstärkers sich innerhalb der Dignitätsgruppen nur wenig unterscheidet ($p=0,43$). Die Farbpixeldichte am Höchstpunkt der Anflutung war bei den untersuchten Malignomen größer ($CPD_{post}=6,21\%$ (SD 7,49)) als bei den benignen Tumoren ($CPD_{post}=4,74\%$ (SD 6,85)), $p=0,27$. Die Differenz dieser Werte (Zunahme Z) war ebenfalls bei den Malignomen durchschnittlich höher (5,09% (SD 5,88) versus 4,0% (SD 6,34)), allerdings nicht signifikant (Tabelle13) .

Wird das Vorhandensein von Vaskularisation als Zeichen für Bösartigkeit gewertet, so verbessert die Gabe von Levovist® die Diagnostik. Eine signifikante Korrelation zwischen den sonographischen Gefäßmessungen nach Gabe von Levovist® und der histopathologischen Malignomdiagnose wurde z.B. von Chaudhari et al. festgestellt (Chaudhari et al., 2000). Die konkreten Angaben unterscheiden sich jedoch zwischen den verschiedenen Untersuchern sehr. Anhand einer subjektiven Auswertung mit Einteilung der Zunahme der Vaskularisation nach Levovist® in 4 Stufen verzeichnete die Gruppe um Kedar et al. einen Anstieg der Sensitivität bei der Diagnose maligner Tumoren von 88,9% auf 100% und der Spezifität von 87,5% auf 100% (Kedar et al., 1996). Diese eindeutigen Ergebnisse konnten bisher bei keiner weiteren Studie weder im Rahmen einer subjektiven noch einer computerassistierten Analysetechnik bestätigt

werden (Stuhrmann et al., 1998). Moon et al. beschreiben zwar eine Zunahme der Sensitivität von 36% auf 95%, jedoch nahm die Spezifität von 86% auf 79% nach Gabe von Levovist® ab (Moon et al., 2000 a). Inwieweit bei diesem Ergebnis Fehlerquellen wie z.B. Einfluß des Bloomings eine Rolle spielen, bleibt zu erörtern.

5.2.2.3 VERGLEICH TUMORZENTRUM / UMGEBUNG

Von weiterem Interesse war die Frage, ob und wie weit sich neoangiogenetisch entstandene Tumorgefäße in die Tumorumgebung ausdehnen. Zugrunde liegt die These, daß selbst in histopathologisch unauffälligem Gewebe in einer Entfernung von über 3cm von einem Karzinom noch angiogenetische Potenz vorhanden sei (Jensen et al., 1982). Für die Farbdopplerdiagnostik würde dies konsequenterweise bedeuten, daß die Werte der Anflutungsparameter des Zentrums bei malignen Tumoren mit denen der Peripherie übereinstimmen. Wie oben beschrieben, wurden innerhalb eines Randsaums von 1cm in der vorliegenden Untersuchung unabhängig von der Tumorgöße die Gefäßeigenschaften untersucht. Es zeigte sich, daß die Parameter des MCV als auch der CPD in der Umgebung der Malignome und der gutartigen Läsionen den tumorzentral gemessenen Werten sehr ähnlich sind. Die Anstiegszeit $t(m)$ der benignen Läsionen ist in der Peripherie signifikant länger als tumorzentral ($p=0,04$).

Dies läßt zwei mögliche Interpretationen zu. Einerseits besteht die Möglichkeit, daß die neoangiogenetisch detektierten Gefäße der Malignome sich über die Grenzen des Tumors mindestens innerhalb des Untersuchungsgebietes von 1cm Randsaum fortsetzen. Andererseits könnten in den gutartigen Tumoren, vor allem den Fibroadenomen, zentral kräftige Gefäße vorliegen, in welchen eine schnelle und kräftige Anflutung des Levovist® erfolgt. Eventuell ist die Umgebung dieser gutartigen Tumoren mit kleineren Gefäßen durchsetzt. Einschränkend muß allerdings erwähnt werden, daß Ergebnisse aus der Umgebung des Tumors in ihrer Aussagekraft eingeschränkt sind, da der Rand nicht anteilmäßig auf die Tumorgöße abgestimmt werden konnte. Während ihrer immunhistochemischen Untersuchungen haben Weind et al. festgestellt, daß bei invasiven dukalen Karzinomen die Dichte von Mikrogefäßen in deren Peripherie am größten ist, unabhängig von möglichem zentralem Tumorzerfall (Weind et al., 1998). Dies wurde auch bei MRM-Studien nachgewiesen (Orel et al., 1994; Buadu et al., 1996). In der Studie von Weind et al. wurden weiterhin auch in Fibroadenomen viele Mikrogefäße größer als 40µm -und somit im Ultraschall

erkennbar- beobachtet. Dies führte die Autoren zu der Vermutung, daß auch gutartige Tumoren neoangiogenetische Wirkung haben. Die Gefäßverteilung ist innerhalb von Fibroadenomen auch uniformer verteilt als in Malignomen. In nichtsklerosierten Fibroadenomen ist die Anflutung stärker, in sklerosierten variabel (Weind et al., 1998).

Grundsätzlich stellt sich in der gesamten sonographischen Vaskularisationsanalyse die Frage, ob die bestehende Technik sensibel genug ist, die durch Neoangiogenese entstandenen Mikrogefäße darstellen zu können (Delorme, 1998). Gefäße können mit Levovist® ab einer Größe von 40µm detektiert werden, bei kleineren Mikrogefäßen werden die Signale zu stark von Gewebsefekten überlagert. Für die neoangiogenetischen Mikrogefäße werden Größen ab etwa 20µm beschrieben (Weind et al., 1998).

5.2.3 DREIDIMENSIONALE DATEN

5.2.3.1 VOLUMENBESTIMMUNG

Die sonographische Volumenbestimmung eines Organs wird herkömmlicherweise anhand der Morphometrie des Tumors in den drei Ebenen des Raumes vorgenommen. Dieses Verfahren ist allerdings sehr ungenau, da die Organformen nicht auf eine geometrische Form reduziert werden können. Daher stellt die dreidimensionale Volumenmessung des Organs erstmals eine korrekte Meßmöglichkeit dar (Gilja et al., 1999). Außerdem ist die Speicherung dreidimensionaler Daten die einzige Möglichkeit, Reproduzierbarkeit bei sonographischen Messungen wirklich zu ermöglichen (Fenster et al., 2001).

In der Vaskularisationsanalyse bietet der dreidimensionale Ultraschall ebenfalls eine neue Option. Bei der Auswertung der Farbpixeldichte im zweidimensionalen Bild besteht das Problem der Wahl der Tumorebene, in der untersucht werden soll, da die Vaskularisation innerhalb eines Tumors nie gleichmäßig verteilt ist. Es gibt Regionen im Tumor, die stärker vaskularisiert sind (Delorme, 1998). Manche Autoren bestimmten daher die Farbpixeldichte im zweidimensionalen Ultraschall in mehreren Ebenen. Um die Ungenauigkeit durch die Wahl der Tumorebene zu umgehen, wurde in der vorliegenden Studie eine neue Methode eingesetzt, welche die dreidimensionale Darstellung der Tumoren ermöglicht. Neben der Option der dreidimensionalen

Darstellung von Strukturen können auch volumetrische Messungen sowie die Segmentation von Grauwert- und Farbvolumina durchgeführt werden. Dies ermöglicht die Berechnung des Tumor- sowie Gefäßvolumens. Da die einzelnen Volumenpunkte im dreimensionalen Ultraschall „Voxel“ genannt werden, wurde in Analogie zur Color Pixel Density der Begriff der Color Voxel Density (CVD), der Farbvoxeldichte, eingeführt (Nitsch et al., 1997).

Im untersuchten Patientengut sind die malignen Tumoren durchschnittlich größer (3,7 ml) als die benignen (1,9 ml). Der durchschnittliche Anteil des Farbvolumens am Gesamttumor unterscheidet sich zwischen den Dignitätsgruppen kaum. Bei zwei benignen Tumoren wurden computerassistent keine Signale im Tumor erkannt. Somit erbringt die volumetrische Analyse der Vaskularisation in der vorliegenden Studie keine weitere Hilfe zur Diskriminierung zwischen gut- und bösartig.

Die Literaturrecherche zeigte, daß bei den meisten dreidimensionalen Vaskularisationsanalysen von Mammatumoren das Gesamtvolumen der Voxel zugunsten der subjektiven Auswertung der Morphologie in den Hintergrund tritt (Carson et al., 1997).

5.2.3.2 VERGLEICH CPD/CVD

Um zu untersuchen, wie repräsentativ die in einer Tumorebene gemessene CPD für die Gesamtvaskularisation des Tumors ist, wurde die CPD mit dem dreidimensionalen Farbvolumen, der CVD, verglichen. Dieser Vergleich ist von Interesse, da viele Untersucher die Vaskularisation einer Ebene beurteilten und aus deren Ergebnis indirekt auf die Gesamtvaskularisation des Tumors schließen (Moon et al., 2000 a; Menna et al., 1999).

Bei einem Großteil der Tumoren liegt ein verhältnismäßig größerer Anteil an Farbelementen im zweidimensionalen als im dreidimensionalen Bild vor, ohne daß ein linearer Zusammenhang oder eine Tendenz bezüglich der Dignität der Tumoren festzustellen ist. Der relativ höhere Farbanteil im zweidimensionalen Bild liegt unter anderem darin begründet, daß in der Regel eine hochvaskularisierte Tumorebene gewählt wurde. Außerdem wurden von Beginn der Applikation Daten gespeichert. Daher wurde der überschießende Farbumschlag zu Beginn der Anflutung, das Blooming, ebenfalls aufgezeichnet. Andererseits werden die kleinsten darstellbaren

Gefäße, die bei Untersuchungen ohne Levovist[®] nicht sichtbar sind, ebenfalls in diesem Zeitraum erfaßt. Diese Gefäße können bis zu einer Größenordnung von 40-70µm dargestellt werden, Gefäße von 20µm sind nicht mehr darstellbar (Delorme et al., 1999). In der dreidimensionalen Untersuchung wurde erst dann gemessen, als das Blooming bereits abgeklungen war. Da dann Kontrastmittel bereits wieder abgeflutet ist, können anhand der CVD vermutlich nur größere Gefäße dargestellt werden. Hingegen könnten bei Akquisition von Bolusgabe an Gefäße aufgrund des Bloomings fälschlicherweise als kräftig bezeichnet werden. Um eine genaue Bewertung vornehmen zu können, ist die Korrelation mit der Histologie erforderlich.

Die Tumoren, die bei der zweidimensionalen Messung keine Anflutungskurven aufwiesen, zeigten im dreidimensionalen Bild außer im Zentrum von zwei benignen Tumoren Farbsignale. Teilweise ist der prozentuale Volumenanteil sehr hoch. Bei diesen Tumoren ist davon auszugehen, daß die Anflutungsparameter in der falschen Tumorebene gemessen wurden. Dies macht immerhin rund 20% der untersuchten Tumoren aus.

Der Flächenanteil der Farbpixel gemessen im zweidimensionalen Bild ist diesen Ergebnissen zufolge meist nicht repräsentativ für die Gesamtvaskularisation des Tumors.

5.2.3.3 GEFÄßMORPHOLOGIE

Die Möglichkeit der Bewußtwerdung der genauen strukturellen Zusammenhänge des untersuchten Organs stellt einen großen Vorteil des dreidimensionalen Ultraschalls dar. Beim Betrachten der akquirierten Tumorblöcke aus den verschiedenen Blickwinkeln sowie beim Durchfahren des Tumors gelingt es dem Untersucher besser, die normalerweise während der Untersuchung sehr schnell aneinandergereihten Informationen auf mentaler Ebene zu verarbeiten (Fenster et al., 2001). Dies ist vor allem ein großer Vorteil für im Ultraschall noch Unerfahrene Untersucher. Daher wird 3D-Ultraschall auch zu Trainingszwecken eingesetzt.

Mammatumoren wurden dreidimensional von Blohmer et al. untersucht. Die Gruppe kam zu dem Ergebnis, daß mit dieser Technik die Umgebung des Tumors sowie zystische Anteile besser als im zweidimensionalen Bild beurteilt werden können. Sie heben ebenfalls den Vorteil der möglichen Nachbefundung durch Kollegen in

Abwesenheit der Patientin hervor (Blohmer et al., 1996). 3D-Ultraschall eignet sich am besten zur Darstellung von flüssigkeitsgefüllten Hohlorganen oder z.B. in der Pränataldiagnostik, da hier aufgrund der Impedanzunterschied zwischen den verschiedenen Strukturen eine bessere Abgrenzung des untersuchten Organs möglich ist (Cesarani et al., 1999). Rotten et al. konnten in einer großen Studie an 186 Mammatumoren zeigen, daß bei dreidimensionalen B-Modus-Untersuchungen im Vergleich zur herkömmlichen zweidimensionalen Untersuchung zwar eine niedrigere Sensitivität, jedoch eine höhere Spezifität bei der Unterscheidung zwischen malignen und benignen Tumoren vorliegt (Rotten et al., 1999).

Im Rahmen der Vaskularisationsanalyse beschreiben einige Autoren den Verlauf der Tumorgefäße in der zweidimensionalen Schnittebene. In einer Studie, bei welcher Analysen der Vaskularisation anhand verschiedener Methoden durchgeführt wurden, war die Beurteilung der Morphologie der Gefäße mit einer Sensitivität von 90% und einer Spezifität von 81% das beste Unterscheidungskriterium zwischen gut- und bösartig (Stuhrmann et al., 2000). Dabei besteht jedoch immer die Ungewißheit, ob gewundene Strukturen mehrfach angeschnitten wurden (Stuhrmann et al., 1998). Dies ist auch ein Problem bei den weiter oben aufgeführten ersten Methoden des Auszählens der Farbpixel.

Nach der Beurteilung der Anflutungsparameter und den volumetrischen Messungen komplettiert die morphologische Beurteilung der Gefäße die in dieser Studie durchgeführte Vaskularisationsdiagnostik. Gleichzeitig stellt sie die einzige Auswertung dar, die rein subjektiv erfolgte. Um das Ergebnis besser definieren zu können, wurde in der vorliegenden Studie ein Beobachtungsscore entwickelt, der hierarchisch gegliedert ist. Je stärker der Tumor vaskularisiert war, desto höher ist die erreichte Punktzahl. Der Untersuchung liegt wieder die Hypothese zugrunde, Malignome seien stärker vaskularisiert als gutartige Tumoren. Daher wurden bei der Beurteilung des Scores niedere Scorewerte benignen Befunden zugeordnet, hohe Scorewerte wurden als maligne interpretiert.

Vier benigne und ein maligner Tumor erhielten einen Beobachtungsscore von 0. Hierzu stehen die Ergebnisse der Volumenbestimmung im Gegensatz, da hier nur bei zwei benignen Tumoren kein Farbanteil im Tumorzentrum nachgewiesen wurde. Es ist anzunehmen, daß bei einer sehr kleinen Anzahl an Farbvoxeln im gesamten

Tumorzusammenhang diese zwar bei der quantitativen computerisierten Auswertung erfaßt werden, jedoch rein visuell bei der deskriptiven Evaluierung nicht erkennbar waren. Bei diesen Tumoren lagen peripher Gefäßsignale vor, die jedoch durch den hierarchischen Aufbau des Scores keine Beachtung fanden. Der während der Untersuchung gewonnene Eindruck, die Ergebnisse würden eindeutiger ausfallen, da z.B. relativ viele Fibroadenome deutliche Gefäße aufwiesen, bestätigte sich nicht. Die Scorewerte unterschieden sich kaum voneinander und anhand der Bewertung des Beobachtungsscores konnte ebenfalls keine genaue Zuordnung vorgenommen werden.

In Untersuchungen anderer Autoren gelang es jedoch, tumortypische Vaskularisationsmuster zu finden. So zum Beispiel in einer Studie von Rotten et al.. Anhand des dreidimensionalen Ultraschalls konnte die Spezifität der Diagnostik von Malignomen erhöht werden, die Sensitivität nahm jedoch ab (Rotten et al., 1999). Ebenso stellte beim Vergleich zwischen der Speicherung der Vaskularisationsuntersuchung auf Video, der zwei- sowie der dreidimensionalen Vaskularisationsanalyse die subjektive Beschreibung anhand der 3D-Aufnahmen die Methode mit der höchsten Sensitivität (90%) und Spezifität (85%) bei der Unterscheidung zwischen benignen und malignen Tumoren dar (Carson et al., 1997).

Bei der deskriptiven Analyse der dreidimensionalen Gefäßdarstellungen sollten mehrere Faktoren berücksichtigt werden: Aufgrund der Pulsationen in den Gefäßen ist es möglich, daß ein Gefäßabschnitt nicht zur Darstellung kommt, da die Datenakquisition im Moment der Diastole erfolgte. Die Farbsignale erscheinen dann nicht kontinuierlich und werden nicht als Gefäß beurteilt. Einzigen Lösungsansatz stellt die EKG-Triggerung dar. Bauer et al. setzten sie bei der dreidimensionalen echosignalverstärkten transkraniellen Doppler-Ultraschalldiagnostik ein (Bauer et al., 1998). Artefakte wie z.B. Blooming können einerseits leichter identifiziert werden als in der zweidimensionalen Darstellung, da zumindest im Rotationsmodus die überschießende Farbkodierung deutlich sichtbar wird. Diskretere Artefakte können jedoch ebenfalls übersehen werden und zählen dann in der Auswertung als „Gefäß“. Die deskriptive Analyse birgt die Gefahr von Fehlinterpretation, Untersucherabhängigkeit und fehlender Reproduzierbarkeit.

Die dreidimensionale Gefäßdarstellung kann zwar im Einzelfall eindrucksvolle Informationen über Gefäßbäume liefern, ist jedoch zur Dignitätsbeurteilung mit der

momentan verfügbaren Technik nicht geeignet. Eventuell könnten bessere Ergebnisse mit der Power-Doppler-Sonographie und der dreidimensionalen Aufnahmetechnik erzielt werden. Außerdem sollten Studien mit größeren Fallzahlen durchgeführt werden. Die dreidimensionale Analyse der Gefäßmorphologie stellt momentan nur einen Teilaspekt der Vaskularisationsanalyse von Mammatumoren dar.

6 ZUSAMMENFASSUNG

Ziel dieser Studie war es, anhand von drei computerassistierten Methoden der zwei- und dreidimensionalen sonographischen Vaskularisationsdiagnostik nach Gabe des Echosignalverstärkers Levovist® neue Möglichkeiten zur Differenzierung von Mammatumoren zu ermitteln. Bei 26 benignen und 22 malignen Tumoren wurden die Anflutungskurven von Levovist® im Tumor und der Umgebung untersucht. Hierbei wurden die zeitlichen Verläufe des MCV (mittlerer Farbwert) und der CPD (Farbpixeldichte) analysiert. Mit dreidimensionalem Ultraschall wurde computerassistiert das gesamte Gefäßvolumen und deskriptiv die Gefäßmorphologie evaluiert.

Bei keinem der drei untersuchten zweidimensionalen Anflutungsparameter Anflutungszeit T, Anstiegszeit t(m) und Steigung m wurde ein signifikanter Unterschied beim Vergleich zwischen den Dignitätsgruppen festgestellt. Der Farbanteil zweidimensionaler Schnittbilder der Malignome ist vor und nach Gabe von Levovist® nicht signifikant größer als bei den benignen Tumoren. Eine genaue Dignitätsbeurteilung ausgehend von einer einzelnen Kurve ist aufgrund der hohen Variabilität der Kurvenverläufe nicht möglich. Bei der Analyse der 3D-Daten konnte anhand der Bestimmung der Farbanteile am Gesamtvolumen des Tumors keine Trennung zwischen den Dignitätsgruppen vorgenommen werden. Der Vergleich mit den zweidimensional ermittelten Farbanteilen zeigte, daß von der Vaskularisation einer Tumorebene nicht auf die Gesamtvaskularisation des Tumors geschlossen werden darf. Bei der deskriptiven Analyse dreidimensionaler Gefäßdarstellungen konnte anhand eines Beurteilungsscores kein artspezifisches dreidimensionales Vaskularisationsmuster erarbeitet werden.

Die durchgeführte Studie zeigt, daß die computergestützte zwei- und dreidimensionale Vaskularisationsanalyse von Mammatumoren mit Levovist® momentan aufgrund der hohen Variabilität der Ergebnisse keine eigenständige Methode zur Differentialdiagnose der Tumoren darstellt. Ein großes Problem in der sonographischen Mammadiagnostik stellt die mangelnde Standardisierbarkeit der Untersuchung dar. Aufgrund der kostengünstigen und risikolosen Anwendung von Ultraschall sollten jedoch an größeren Studienkollektiven weitere Untersuchungen zur Standardisierung sowie zur Verbesserung der Gerätetechnik durchgeführt werden.

7 LITERATURVERZEICHNIS

Albrecht, T., Urbank, A., Mahler, M., Bauer, A., Dore, C.J., Blomley, M.J., Cosgrove, D.O. und Schlieff, R., Prolongation and optimization of Doppler enhancement with a microbubble US contrast agent by using continuous infusion: preliminary experience. *Radiology*, 207(2), 339-347 (1998).

Axelsson, K., Ljung, B.M., Moore, D.H., 2nd, Thor, A.D., Chew, K.L., Edgerton, S.M., Smith, H.S. und Mayall, B.H., Tumor angiogenesis as a prognostic assay for invasive ductal breast carcinoma. *J Natl Cancer Inst*, 87, 997-1008 (1995).

Azzopardi, J.G., Chepick, O.F., Hartmann, W.H., Jafarey, N.A., Llombardt-Bosch, A., Ozzello, L., Rilke, F., Sasano, N., Sobin, L.H., Sommers, S.C., Stalsberg, H., Sugar, J. und Williams, A.O., The World Health Organization histological typing of breast tumors-second edition. *Am J Clin Pathol*, 78, 806-816 (1982).

Baker, L.H., Breast Cancer Detection Demonstration Project: five-year summary report. *CA Cancer J Clin*, 32, 194-225 (1982).

Bassett, L.W., Imaging of breast masses. *Radiol Clin North Am*, 38(4), 669-691 (2000).

Bauer, A., Bogdahn, U., Haase, A. und Schlieff, R., Dreidimensionale echosignalverstärkte transkranielle Doppler- Ultraschalldiagnostik. *Radiologe*, 38, 394-398 (1998).

Bell, D.S., Bamber, J.C. und Eckersley, R.J., Segmentation and analysis of colour Doppler images of tumour vasculature. *Ultrasound Med Biol*, 21, 635-647 (1995).

Birdwell, R.L., Ikeda, D.M., Jeffrey, S.S. und Jeffrey, R.B., Jr., Preliminary experience with power Doppler imaging of solid breast masses. *Am J Roentgenol*, 169, 703-707 (1997).

Blohmmer, J.U., Bollmann, R., Heinrich, G., Paepke, S. und Lichtenegger, W., Die dreidimensionale Ultraschalluntersuchung (3D-Sonographie) der weiblichen Brustdrüse. *Geburtshilfe Frauenheilkd*, 56, 161-165 (1996).

Blomley, M., Albrecht, T., Cosgrove, D., Jayaram, V., Patel, N., Butler-Barnes, J., Eckersley, R., Bauer, A. und Schlieff, R., Stimulated acoustic emission imaging ("sono-scintigraphy") with the ultrasound contrast agent Levovist®: a reproducible Doppler ultrasound effect with potential clinical utility. *Acad Radiol*, 5 Suppl 1, 236-239; discussion 252-253 (1998).

Buadu, L.D., Murakami, J. und Murayama, S., Breast lesions: correlation of contrast medium enhancement pattern on MR images with histopathologic findings and tumor angiogenesis. *Radiology*, 200, 639-649 (1996).

Bühl, A. und Zöfel, B., SPSS für Windows Version 6: Praxisorientierte Einführung in die moderne Datenanalyse, 231-243, Edison-Wesley Verlag Bonn (1994).

Bundesgesundheitsministerium, Daten des Gesundheitswesens. Schriftreihe des Bundesministeriums für Gesundheit, 122, 25-30, Nomos Verlag Baden-Baden (1999).

Burns, P.N., Ultrasound contrast agents. Characteristics and diagnostic potential. *Radiol Med*, 15-23 (1994).

Carson, P.L., Moskalik, A.P., Govil, A., Roubidoux, M.A., Fowlkes, J.B., Normolle, D., Adler, D.D., Rubin, J.M. und Helvie, M., The 3D and 2D color flow display of breast masses. *Ultrasound Med Biol*, 23, 837-849 (1997).

Cesarani, F., Isolato, O.H., Capello, S. und Bianchi, S.D., Tridimensional ultrasonography. First clinical experience with dedicated devices and review of the literature. *Radiol Med (Torino)*, 97(4), 256-264 (1999).

Chaudhari, M.H., Forsberg, F., Voodarla, A., Saikali, F.N., Goonewardene, S., Needleman, L., Finkel, G.C. und Goldberg, B.B., Breast tumor vascularity identified by contrast enhanced ultrasound and pathology: initial results. *Ultrasonics*, 38(1-8), 105-109 (2000).

Ciatto, S., Cataliotti, L. und Distanti, V., Nonpalpable lesions detected with mammography: review of 512 consecutive cases. *Radiology*, 165, 99-102 (1987).

Cosgrove, D.O., Kedar, R.P., Bamber, J.C., al-Murrani, B., Davey, J.B., Fisher, C., McKinna, J.A., Svensson, W.E., Tohno, E., Vagios, E. und et al., Breast diseases: color Doppler US in differential diagnosis [see comments]. *Radiology*, 189, 99-104 (1993).

Cox, B.A., Kelly, K.M., Ko, P., Hertzog, L. und Stain, S.C., Ultrasound characteristics of breast carcinoma. *Am Surg*, 64, 934-938 (1998).

D'Orsi, C.J. und Kopans, D.B., Mammographic feature analysis. *Seminars Roentgenol*, 28, 204-230 (1993).

Day, N. und Warren, R., Mammographic screening and mammographic patterns. *Breast Cancer Res*, 2(4), 247-251 (2000).

Delorme, S., Beurteilung der Tumervaskularisation mit der Dopplersonographie. *Radiologe*, 38, 335-343 (1998).

Delorme, S. und Zuna, I., Quantitative Auswerteverfahren in der B-Bild- und Farbdopplersonographie. *Ultraschall Klin Prax*, 50-61 (1995).

Delorme, S., Peschke, P., Zuna, I. und van Kaick, G., Detection of small vessels with colour doppler sonography: limits of sensitivity. *European Radiol*, 9(1), 104 (1999).

Delorme, S., Zuna, I., Huber, S., Albert, B., Bahner, M.L., Junkermann, H. und van Kaick, G., Colour Doppler sonography in breast tumours: an update. *Eur Radiol*, 8, 189-193 (1998).

- Delorme, S., Weisser, G., Zuna, I., Fein, M., Lorenz, A. und van Kaick, G., Quantitative characterization of color doppler images: reproducibility, accuracy, and limitations. *J Clin Ultrasound*, 23, 537-550 (1995).
- Delorme, S., Zuna, I., Huber, S., Albert, B., Lohr, F., MV., K., Junkermann, H. und van Kaick, G., Farbdopplersonographie bei Mammatumoren: Quantifizierung durch computergestützte Verfahren. *Tumordiagn. u. Ther.*, 180-186 (1995).
- Downey, D.B., Fenster, A. und Williams, J.C., Clinical utility of three-dimensional US. *Radiographics*, 20(2), 559-571 (2000).
- Dudwiesus, H., *Physikalische Grundlagen der Sonographie*, 5-10, Georg Thieme Verlag Stuttgart (1995).
- Dupont, W.D., Page, D.L. und Parl, F.F., Long-term risk of breast cancer in women with fibroadenoma. *New Engl. J. Med.*, 331, 10 (1987).
- Evans, W.P., 3rd, Starr, A.L. und Bennos, E.S., Comparison of the relative incidence of impalpable invasive breast carcinoma and ductal carcinoma in situ in cancers detected in patients older and younger than 50 years of age. *Radiology*, 204, 489-491 (1997).
- Fenster, A., Downey, D.B. und Cardinal, H.N., Three-dimensional ultrasound imaging. *Phys Med Biol*, 46(5), 67-99 (2001).
- Folkman, J., The role of angiogenesis in tumor growth. *Semin Cancer Biol*, 65-71 (1992).
- Fornage, B.D., Recent advances in breast sonography. *Journal Belge de Radiologie* 83(2), 75-80 (2000).
- Forsberg, F., Liu, J.B., Burns, P.N., Merton, D.A. und Goldberg, B.B., Artifacts in ultrasonic contrast agent studies. *J Ultrasound Med*, 13, 357-365 (1994).
- Fournier, D.v., Kuttig, H., Kubli, F., Prager, P., Stolpe, H., Maier, A. und Hüter, J., Wachstumsgeschwindigkeit, des Mammarkarzinoms und röntgenologische "Frühdiagnosen". *Strahlentherapie*, 151(4), 318-332 (1976).
- Frischbier, H.J., Beitrag zur kontroversen Einschätzung des Mammographie-Screenings bei asymptomatischen Frauen zwischen dem 40. und 50. Lebensjahr. *Geburtshilfe Frauenheilkd*, 54, 1-11 (1994).
- Frykberg, E.R. und Bland, K., Overview of the biology and management of ductal carcinoma in situ of the breast. *Cancer*, 350-361 (1994).
- Funke, I. und Schraut, W., Meta-analyses of studies on bone marrow micrometastases: an independent prognostic impact remains to be substantiated. *J Clin Oncol*, 16(2), 557-566 (1998).

- Gasparini, G. und Harris, A.L., Clinical importance of the determination of tumor angiogenesis in breast carcinoma: much more than a new prognostic tool. *J Clin Oncol*, 13, 765-782 (1995).
- Gilja, O.H., Hausken, T., Berstad, A. und Odegaard, S., Measurements of organ volume by ultrasonography. *Proc Inst Mech Eng*, 213 (3), 247-259 (1999).
- Grischke, E.M., Kaufmann, M., Eberlein-Gonska, M., Mattfeld, T., Sohn, C. und Bastert, G., Angiogenesis as a diagnostic factor in primary breast cancer: Microvessel quantitation by stereological methods and correlation with color doppler sonography. *Onkologie*, 35-42 (1994).
- Grüner, C., Schönwälder, A., Schulz-Wendtland, R., Lang, N. und Bautz, W., Welche Rolle spielt die Farbdopplersonographie, unterstützt mit dem Echosignalverstärker Levovist®, in der komplementären Mammadiagnostik? *Aktuelle Radiol*, 8, 58-62 (1998).
- Hackeloer, B.J., Breast ultrasound - the 'gold standard' and other problems [editorial]. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 11, 385-387 (1998).
- Hernandez, A., Basset, O., Bremond, A. und I.E., M., Stereoscopic visualization of three-dimensional ultrasonic data applied to breast tumours. *Eur J Ultrasound*, 8(1), 51-65 (1998).
- Hesch, R.D., Thommen, A. und Beckmann, M.W., Das Mammakarzinom: Molekularpathologie - Molekulargenetik - Präventionsstrategien. *Gynäkologe* (30), 969-976 (1997).
- Holland, R., Veling, S.H., Mravunac, M. und Hendriks, J.H., Histologic multifocality of Tis, T1-2 breast carcinomas. Implications for clinical trials of breast-conserving surgery. *Cancer*, 56(6), 979-990 (1985).
- Huber, S., Computergestützte quantitative Auswerteverfahren von Farbdoppleruntersuchungen in der Tumordiagnostik. *Radiologe*, 38, 867-871 (1998).
- Huber, S., Vesely, M., Zuna, I., Delorme, S. und Czembirek, H., Fibroadenomas: computer-assisted quantitative evaluation of contrast-enhanced power Doppler and correlation with histopathology. *Ultrasound Med Biol*, 27(1), 3-11 (2001).
- Huber, S., Delorme, S. und Zuna, I., Dynamische Erfassung der Kontrastmittelanflutung in der Dopplersonographie. *Radiologe*, 38, 390-393 (1998).
- Huber, S., Delorme, S., Knopp, M.V., Junkermann, H., Zuna, I., von Fournier, D. und van Kaick, G., Breast tumors: computer-assisted quantitative assessment with color Doppler US. *Radiology*, 192, 797-801 (1994).
- Jensen, H.M., Chen, I., DeVault, M.R. und Lewis, A.E., Angiogenesis induced by "normal" human breast tissue: a probable marker for precancer. *Science*, 218 (4569), 293-295 (1982).

Johnson, D.D., Pretorius, D.H., Budorick, N.E., Jones, M.C., Lou, K.V., James, G.M. und Nelson, T.R., Fetal lip and primary palate: three-dimensional versus two-dimensional US. *Radiology*, 217(1), 236-239 (2000).

Jung, H., Mammographie und Strahlenrisiko. *Röfo Fortschr Geb Röntgenstr Neuen Bildgeb Verfahr*, 169 (4), 336-343 (1998).

Kacl, G.M., Liu, P., Debatin, J.F., Garzoli, E., Caduff, R.F. und Krestin, G.P., Detection of breast cancer with conventional mammography and contrast-enhanced MR imaging. *Eur Radiol*, 8, 194-200 (1998).

Kaiser, W.A., MR-Mammographie. *Radiologe*, 33, 292-299 (1993).

Kaiser, W.A. und Zeitler, E., MR Imaging of the breast: fast imaging sequences with and without Gd-DPTA. Preliminary observations. *Radiology*, 170, 681-686 (1989).

Kaiser, W.A. und Zeitler, E., Kernspintomographie der Mamma-Erste klinische Ergebnisse. *Röntgenpraxis*, 38, 256-262 (1985).

Kedar, R.P., Cosgrove, D., McCready, V.R., Bamber, J.C. und Carter, E.R., Microbubble contrast agent for color Doppler US: effect on breast masses. Work in progress. *Radiology*, 198, 679-686 (1996).

Kedar, R.P., Cosgrove, D.O., Bamber, J.C. und Bell, D.S., Automated quantification of color Doppler signals: a preliminary study in breast tumors. *Radiology*, 197, 39-43 (1995).

Kedar, R.P., Cosgrove, D.O., Smith, I.E., Mansi, J.L. und Bamber, J.C., Breast carcinoma: measurement of tumor response to primary medical therapy with color Doppler flow imaging. *Radiology*, 190, 825-830 (1994).

Knighton, D.R., Hunt, T.K., Scheuenstuhl, H., Halliday, B.J., Werb, Z. und Banda, M.J., Oxygen tension regulates the expression of angiogenesis factor by macrophages. *Science*, 221, 1283-1285 (1983).

Konecny, G., Pegram, M., Beryt, M., Untch, M. und Slamon, D., Therapeutic advantage of chemotherapy drugs in combination with Herceptin® against human breast cancer cells with HER-2/neu overexpression. *Breast Cancer Res Treat*, 57: abstr. 467 (1999).

Konsensuskonferenz Bonn: 10-Punkte-Programm zur qualitätsgesicherten Brustkrebs-Früherkennung. *Radiologe*, 40, 61-88 (2000).

Lagalla, R. und Midiri, M., Image quality control in breast ultrasound. *Eur J Radiol*, 27 Suppl 2, S229-233 (1998).

Lee, A.H., Dublin, E.A. und Bobrow, L.G., Angiogenesis and expression of thymidine phosphorylase by inflammatory and carcinoma cells in ductal carcinoma of the breast. *J Pathol*, 187(3), 285-290 (1999).

- Lee, W.J., Chu, J.S., Huang, C.S., Chang, M.F., Chang, K.J. und Chen, K.M., Breast cancer vascularity: color Doppler sonography and histopathology study. *Breast Cancer Res Treat*, 37, 291-298 (1996).
- Lernevall, A., Imaging of axillary lymph nodes. *Acta Oncol*, 39(3), 277-281 (2000).
- Less, J.R., Skalak, T.C., Sevick, E.M. und Jain, R.K., Microvascular architecture in a mammary carcinoma: branching patterns and vessel dimensions. *Cancer Res*, 51, 265-273 (1991).
- Maass, H., Mammakarzinom: Epidemiologie. *Gynäkologe*, 27, 3-6 (1994).
- Maymon, R., Herman, A., Ariely, S., Dreazen, E., Buchovsky, I. und Weinraub, Z., Three-dimensional vaginal sonography in obstetrics and gynaecology. *Hum Reprod Update*, 6 (5), 475-484 (2000).
- Menna, S., Di Virgilio, M.R. und Burke, P., Ultrasonography contrast media Levovist® and power Doppler in the study of the breast. Methodology, vascular morphology and automated enhancement quantification with wash-in and wash-out curves. *Radiol Med (Torino)*, 97(6), 472-478 (1999).
- Milz, P., Kessler, M., Lienemann, A., Opitz, N. und Reiser, M., Blutflußdarstellung in Herdbefunden der Mamma mittels der Power-Doppler-Sonographie. Ein neuer Ansatz zur Dignitätsbeurteilung? *Röfo Fortschr Geb Röntgenstr Neuen Bildgeb Verfahr*, 169, 236- 244 (1998).
- Moon, W.K., Im, J.G., Koh, Y.H., Noh, D.Y. und Park, I.A., US of mammographically detected clustered microcalcifications. *Radiology*, 217(3), 849-854 (2000).
- Moskalik, A., Carson, P.L., Meyer, C.R., Fowkles, J.B., Rubin, J.M. und Roubidoux, M.A., Registration of three-dimensional ultrasound scans of breast for refraction and motion correction. *Ultrasound Med Biol*, 21 (6), 769-778 (1995).
- Nitsch, C.D., Grab, D., Aschoff, A.J., Sokiranski, R. und Brambs, H.J., Neue Entwicklungen in der Ultraschalldiagnostik: Der dreidimensionale Ultraschall. *Röntgenpraxis*, 50, 247-252 (1997).
- Orel, S.G., MR imaging of the breast. *Radiol Clin North Am*, 38(4), 899-913 (2000).
- Orel, S.G., Schnall, M.D., LiVolsi, V.A. und Troupin, R.H., Suspicious breast lesions: MRI with radiologic-pathologic correlation. *Radiology*, 190, 485-493 (1994).
- Page, D.L., Kidd, T.E.J., Dupont, W.D., Simpson, J.F. und Rogers, L.W., Lobular neoplasia of the breast: higher risk for subsequent invasive cancer predicted by more intensive disease. *Hum Pathol*, 22(12), 1232-1239 (1991).
- Park, B.W., Kim, S.I., Kim, M.H., Kim, E.K., Park, S.H. und Lee, K.S., Clinical breast examination for screening of asymptomatic women: the importance of clinical breast examination for breast cancer detection. *Yonsei Med J*, 41(3), 312-318 (2000).

Petrick, J., Zomack, M. und Schlieff, R., An investigation of the relationship between ultrasound echo enhancement and Doppler frequency shift using a pulsatile arterial flow phantom. *Invest Radiol*, 32, 225-235 (1997).

Rosen, T.T., Kosloff, C., Lieberman, P.H., Adair, F. und Braun, D.W.J., Lobular carcinoma in situ of the breast. Detailed analysis of 99 patients with average follow-up of 24 years. *Am J Surg Pathol*, 2(3), 225-251 (1978).

Rotten, D., Levailant, J.M. und Zerat, L., Analysis of normal breast tissue and solid breast masses using three-dimensional ultrasound mammography. *Ultrasound Obstet Gynecol.*, 14(2), 114-124 (1999).

Sakas, G., Walter, S., Grimm, M. und Richtscheid, M., Freihandakquisition, Rekonstruktion und Visualisierung von 3D- und 4D-Ultraschall. *Radiologe*, 40, 295-303 (2000).

Schering, Levovist®. Kontrastmittel für die Ultraschalldiagnostik. Produktinformation (1996).

Schleicher, U.M., Entdeckung des Mammakarzinoms - Statistisch-epidemiologische Untersuchung zum derzeitigen Stand. *Röfo Fortschr Geb Röntgenstr Neuen Bildgeb Verfahr*, 163, 469-73 (1995).

Schlieff, R. und Bauer, A., Ultraschall-Kontrastmittel. Neue Perspektiven in der Ultraschalldiagnostik. *Radiologe*, 36, 51-57 (1996).

Schurmann, R. und Schlieff, R., Saccharide-based contrast agents. Characteristics and diagnostic potential. *Radiol Med (Torino)*, 87, 15-23 (1994).

Sickles, E.A., Breast Masses: mammographic evaluation. *Radiology*, 173, 297-303 (1989).

Silverstein, M.J., Lagios, M.D. und Craig, P.H., A prognostic index for ductal carcinoma in situ of the breast. *Cancer*, 77, 2267-2274 (1996).

Sohn, C., Beldermann, F. und Bastert, G., Sonographic blood flow measurements in malignant breast tumors. A potential new prognostic factor. *Surg Endosc*, 11, 957-960 (1997).

Steiner, H., Staudach, A., Spitzer, D. und Schaffer, H., Three-dimensional ultrasound in obstetrics and gynaecology: technique, possibilities and limitations. *Hum Reprod*, 9, 1773-1778 (1994).

Stuhrmann, M., Aronius, R. und Schietzel, M., Tumor vascularity of breast lesions: potentials and limits of contrast-enhanced Doppler sonography. *Am J Roentgenol*, 175(6), 1585-1589 (2000).

Stuhrmann, M., Aronius, R., Roefke, C. und Schietzel, M., Vaskularisation von Mammatumoren: Einsatz des Ultraschallkontrastmittels Levovist® in der Dignitätsbeurteilung. *Röfo Fortschr Geb Röntgenstr Neuen Bildgeb Verfahr*, 169, 360-364 (1998).

Tabar, L., Chen, H.H., Duffy, S.W. und Krusemo, U.B., Primary and adjuvant therapy, prognostic factors and survival in 1053 breast cancers diagnosed in a trial of mammography screening. *Jpn J Clin Oncol*, 29(12), 608-616 (1999).

Tabar, L., Fagerberg, G., Duffy, S.W., Day, N.E., Gad, A. und Grøntoft, O., Update of the Swedish two-county program of mammographic screening for breast cancer. *Radiol Clin North Am*, 30(1), 187-210 (1992).

Tavassoli, K., Cavalla, P., Porcelli, A. und Surico, N., Ultrasound diagnostic criteria in breast disease. *Panminerva Med*, 39, 178-182 (1997).

Teubner, J., Bohrer, M., van Kaick, G. und Georgi, M., Echomorphologie des Mammakarzinoms. *Radiologe*, 33, 277-286 (1993).

Tiemann, K., Becher, H., Bimmel, D., Schlieff, R. und Nanda, N.C., Stimulated Acoustic Emission. *A Jnl. of CV Ultrasound & Allied Tech.*, 14, 65-69 (1997).

Weind, K.L., Maier, C.F., Rutt, B.K. und Moussa, M., Invasive carcinomas and fibroadenomas of the breast: comparison of microvessel distributions-implications for imaging modalities [see comments]. *Radiology*, 208, 477-483 (1998).

8 ANLAGEN

PATIENTENINFORMATION

Sehr verehrte Patientin,

Wir möchten Sie um Ihre Mitarbeit bitten.

Die heute bei Ihnen durchgeführten Untersuchungen (Röntgenmammographie, Ultraschalluntersuchung der Brust) haben den Zweck, frühzeitig Krebs zu erkennen bzw. auszuschließen, daß Sie Krebs haben.

Dies ist nicht immer eindeutig zu entscheiden. Aus diesem Grunde sind oft Probeentnahmen erforderlich. Um diese Eingriffe zukünftig vermeiden zu können, gibt es eine neue Form von Ultraschalluntersuchung, bei der das Durchblutungsverhalten von Körpergewebe untersucht werden kann.

Damit hoffen wir, gutartige von bösartigen Veränderungen in der Brust noch besser unterscheiden zu können. Diese Untersuchung stellt nach allem, was bekannt ist, kein zusätzliches Risiko dar.

Da es notwendig ist, Ultraschallkontrastmittel aus Milchzuckerbläschen in die Vene zu spritzen, dürfen Sie keine Milchzucker- (Galaktose-) Unverträglichkeit haben.

Bitte ankreuzen: Milchzuckerunverträglichkeit:

☐ Ja ☐ Nein

Als Nebenwirkungen sind möglicherweise Wärme- oder Kältegefühl an der Einstichstelle zu bemerken, so, wie Sie es auch von anderen intravenösen Injektionen oder Blutabnahmen kennen.

Hiermit bestätige ich, daß ich über die Untersuchung mit Levovist® informiert wurde und damit einverstanden bin.

_____ Jena, den 1999

Vielen Dank für Ihre Hilfe,
Ihre Ärztinnen und Ärzte der Mammographie-Abteilung

DANKSAGUNG

Für die freundliche Vergabe des Themas meiner Promotion und seine Unterstützung bei der Durchführung danke ich Herrn Professor Dr. Kaiser, Direktor des Instituts für Diagnostische und Interventionelle Radiologie der Universitätsklinik Jena.

Mein ganz besonderer Dank gilt Herrn Dr. Malich, der mich hervorragend angeleitet und mir viele sehr hilfreiche Tipps gegeben hat.

Während der klinischen Phase wurde ich von Herrn Dr. Hochmuth betreut. Frau Oberärztin Dr. Fleck stand mir ebenfalls mit Rat und Tat zur Seite. Beiden danke ich.

Bei den MTRAs der Mammographieabteilung möchte ich mich besonders bedanken. Sie haben mich während den klinischen Untersuchungen jederzeit unterstützt, allen voran Frau Ullmann.

Für die Zusammenarbeit mit der Universitätsfrauenklinik bei der Untersuchung der Patientinnen danke ich Herrn Professor Dr. Schneider, Direktor der Universitätsfrauenklinik Jena, und seinem Ärzteteam.

Ohne das Einverständnis der Patientinnen zur Untersuchung wäre die Durchführung meiner Doktorarbeit nicht möglich gewesen. Meine tiefe Achtung und mein Dank gilt diesen Frauen. Sie haben sich trotz der lebensverändernden, psychisch sehr belastenden Phase, in der sich einige von ihnen befanden, für eine zusätzliche Untersuchung im Dienste der Forschung entschieden.

Von ganzem Herzen möchte ich mich bei meinen Eltern bedanken. Sie haben mich auf meinem bisherigen Lebensweg bei all meinen Plänen und meiner Ausbildung in jeder Hinsicht unterstützt. Für ihre Geduld, ihr Verständnis und ihren Rückhalt bin ich ihnen sehr dankbar.

LEBENS LAUF

Claudia Bitzer

Geboren am 25. Juni 1975 in Albstadt-Ebingen

1981-85	Grund- und Hauptschule Balingen
1985-94	Längenfeld-Gymnasium Balingen, Abitur
10/94-04/00	Studium der Humanmedizin, FSU Jena
09/96	Physikum
08/97	1. Staatsexamen
	Famulaturen in Balingen, Jena, Heidelberg, Bayreuth und Nizza
03/00	2. Staatsexamen
04/00-04/01	Studium der Humanmedizin, LMU München, Praktisches Jahr
04/00-08/00	Innere Medizin, Kantonsspital Liestal, Schweiz
08/00-12/00	Gynäkologie und Geburtshilfe, Universitätsfrauenklinik Großhadern, München
12/00-03/01	Chirurgie, University of Chicago Hospitals, USA
	Plastische Chirurgie, Children's Hospital San Juan, Puerto Rico
04/01	3. Staatsexamen
Seit 08/01	Tätigkeit als Ärztin im Praktikum, Gynäkologie und Geburtshilfe, Klinikum Ludwigsburg

Ludwigsburg, 24. Februar 2003

.....

EHRENWÖRTLICHE ERKLÄRUNG

Hiermit erkläre ich, daß mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität bekannt ist,

ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönliche Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,

mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie der Herstellung des Manuskriptes unterstützt haben:

- Herr Dr. A. Malich
- Herr Dr. A. Hochmuth
- Frau OÄ Dr. M. Fleck
- Herr Prof. Dr. med. Dipl. Chem. W. A. Kaiser,

die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und daß Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Gegenstände von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit der vorgelegten Dissertation stehen,

daß ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und

daß ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Ludwigsburg, 24. Februar 2003

.....